



Facultad de Veterinaria  
**Universidad** Zaragoza



# Trabajo Fin de Grado

Estudio comparativo del uso de distintos  
compuestos para estabilizar proteicamente a  
los vinos

Autor

Eva Castro Meler

Directores

Purificación Hernández Orte

Eduardo Vela Román

Facultad de Veterinaria

2015



DATOS PERSONALES EL ALUMNO

Apellidos: Castro Meler

Nombre: Eva

DNI: 73209385V

Dirección: C/Calvario nº34 2ºB Monzón (Huesca)

Teléfono: 618169433

Correo electrónico: evacastromzn@gmail.com

# ÍNDICE

RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	2
1. INTRODUCCIÓN .....	3
1. 1 Composición del mosto y del vino:.....	3
1.2. Fermentación alcohólica .....	4
1.3 Clarificación y estabilización del vino: .....	5
1.3.1. Encolado .....	5
1.4. Proteínas y quiebra proteica: .....	6
1.5. Bentonitas .....	6
1.6. Nanoesponjas .....	6
2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS .....	7
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	7
3. 1. Análisis.....	9
3.1.1. Test de calor .....	9
3.1.2. pH y Acidez Total .....	10
3.1.3. Acidez Volátil .....	10
3.1.4. Anhídrido sulfuroso .....	10
3.1.5. Grado alcohólico.....	10
3.1.6. Azúcares reductores .....	11
3.1.7. Ion potasio .....	11
3.1.8. Absorbancia a 420 nm .....	11
3.1.9. Estabilidad tartárica.....	11
3.1.9.1. Test de conductividad de Davis .....	11
3.1.9.2. Cromatografía líquida HPLC.....	12
3.2. Análisis sensorial .....	13
3.3. Compuestos volátiles .....	14
3.3.1. Método para la determinación de aromas mayoritarios (microextracción y análisis GC-FID) .....	14
3.3.2. Método para la determinación de aromas minoritarios (SPE y GC-trampa de iones-MS Analysis).....	14
3.3.3. Método para la determinación de mercaptanos polifuncionales .....	15
3.4. Análisis estadístico .....	15

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	15
4.1. CURVAS DE FERMENTACIÓN .....	16
4.2. ESTABILIDAD PROTEICA.....	17
4.2.1. Estudio de la estabilidad proteica de los vinos obtenidos con los mostos tratados .....	17
4.2.2. Estudio de la estabilidad proteica de los vinos tratados tras finalizar la fermentación alcohólica .....	17
4.3. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS EN LOS PARÁMETROS CLÁSICOS.....	18
4.4. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS EN LOS ÁCIDOS ORGÁNICOS.....	22
4.5. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS EN LOS AROMAS MAYORITARIOS.....	23
4.6. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS EN LOS AROMAS TRAZA.....	27
4.7. MERCAPTANOS POLIFUNCIONALES .....	35
4.8. ANÁLISIS SENSORIAL.....	39
5. CONCLUSIONES .....	39
6. APORTACIONES EN MATERIA DE APRENDIZAJE.....	40
7. EVALUACIÓN DE LA ASIGNATURA Y SUGERENCIAS DE MEJORA .....	41
8. BIBLIOGRAFÍA .....	41
ANEXO .....	43

## RESUMEN

El aroma de un vino permite obtener información sobre la variedad de uva con la que se elaboró, el procedimiento utilizado en su elaboración o la edad del mismo, por ello, la calidad organoléptica de un vino depende en gran medida de sus características aromáticas.

Los vinos antes de salir al mercado son sometidos a diferentes tratamientos de estabilización que permiten obtener vinos brillantes y sin turbideces a lo largo del tiempo. En los vinos blancos, las proteínas suelen dar problemas de precipitados en la botella si previamente no se han eliminado en la bodega. Habitualmente en las bodegas se ha usado bentonita para realizar este proceso, pero en los últimos años se están buscando compuestos que puedan sustituir con efectividad a este compuesto, como son las nanoesponjas.

En este trabajo se ha estudiado el uso de nanoesponjas comparándolas con la bentonita para determinar si hay diferencias en la efectividad del tratamiento para estabilizar vino blanco proteicamente y ver cómo afecta su uso a las características organolépticas de los vinos obtenidos. Se ha usado mosto de Sauvignon Blanc (variedad problemática proteicamente). Los tratamientos se han realizado en mosto y en vino y se han probado diferentes dosis antes y después de la fermentación alcohólica.

En todos los vinos obtenidos tras los tratamientos, se han estudiado los parámetros clásicos enológicos, los aromas y los parámetros que nos permiten determinar si los vinos están estables tanto a nivel de proteínas como de bitartrato. Se han usado técnicas de análisis clásicos, cromatografía líquida y gaseosa. Además, se han realizado análisis sensoriales de los vinos comparando el uso de las bentonitas y las nanoesponjas.

Con los resultados obtenidos se concluyó que tratar el vino después de la fermentación alcohólica con bentonita era más eficaz para estabilizar proteicamente los vinos de Sauvignon Blanc, ya que requería de dosis menores. De esta manera, se consiguen desarrollar más aromas positivos del vino, sobre todo mercaptanos polifuncionales.

## ABSTRACT

The aroma of wine provides information on the variety of grape from which it was drawn up, the procedure used in manufacturing or its age, therefore the organoleptic quality of a wine depends largely on its aromatic characteristics.

The wine before hitting the market is subject to different stabilization treatments that allow for brilliant wines without turbidity over time. In white wines, the proteins usually cause precipitates problems in the bottle if they have not been previously eliminated in the cellar. Usually in the holds, bentonite has been used for this process, but in recent years they are looking for compounds that can effectively replace this it, such as nanosponges.

This paper has studied the use of nanosponges comparing with bentonite to determine whether there are differences in the effectiveness of treatment to stabilize white wine proteically, and see how their use affects the organoleptic characteristics of the wines produced. It has been used must from Sauvignon Blanc (proteically problematic variety). The treatments were performed in must and wine and different doses were tested before and after alcoholic fermentation. All classical oenological parameters have been studied in all wines obtained after the treatments, aromas and parameters that allow us to determine whether the wines are stable both referring to proteins as to bitartrate. They were used classical analysis techniques and liquid and gas chromatography. Furthermore, sensory analyzes were performed comparing wines using bentonites and nanosponges.

With the results obtained it was concluded that treating the wine after alcoholic fermentation with bentonite was more effective to stabilize proteically Sauvignon Blanc wines, as required lower doses. Thus, they are achieved develop positive wine aromas, especially polyfunctional mercaptans.

# **1. INTRODUCCIÓN**

## **1. 1 Composición del mosto y del vino**

El estudio de la composición del mosto y del vino permite comprender los fenómenos que intervienen en la maduración de la uva, en la elaboración del vino, en su estabilización, conservación y envejecimiento.

En la pulpa se localizan la mayor parte de los componentes que conforman el vino. Se encuentra, principalmente, agua biológica, ácidos orgánicos y azúcares.

Los azúcares se encuentran en la uva y durante la fermentación, las levaduras metabolizan transformándolos en CO<sub>2</sub> y etanol. Los ácidos mayoritarios en el mosto son tartárico, málico y cítrico, que conforman la acidez fija, y de ellos, el que está en mayor concentración es el tartárico. La acidez fija del vino es más baja que la del mosto del que procede ya que el ácido tartárico precipita en forma de bitartrato de potasio y tartrato de calcio durante el proceso.[1]

En el vino se encuentran otros ácidos como succínico y acético (éste último conforma la acidez volátil) debidos a la fermentación alcohólica y maloláctica. [2, 3]

Las sustancias nitrogenadas provienen de la uva y casi no tienen influencia sobre el sabor del vino pero son importantes como sustancias nutritivas para levaduras y bacterias durante la fermentación. Pueden dañar la estabilidad del vino, parar la fermentación y provocar quiebras en ellos. Se encuentran en los vinos en forma de sales amoniacales, aminoácidos, proteínas y polipéptidos.[4]

Las proteínas suelen estar en el vino en bajas concentraciones contribuyendo poco a su valor nutritivo, pero ayudan a la calidad de la espuma en vinos espumosos. Su origen es múltiple, pueden proceder de la misma uva, de la autólisis de las levaduras y de los productos de clarificación o de los coadyuvantes de tiraje de naturaleza proteica. El contenido en proteínas solubles de cada una de las partes de la uva es diferente. Las semillas de la uva son las más ricas en estas proteínas, seguidas por la pulpa, siendo la piel el componente más pobre. Las proteínas presentes en los mostos y en los vinos, de forma mayoritaria, aunque son diferentes debido al proceso de vinificación, tienen masas moleculares similares, entre 25 y 35 kDa, siendo el perfil proteínico típico de la variedad de uva, el cual se conserva después de la fermentación. La cantidad de



proteínas presente en los mostos depende de la variedad de uva, el grado de madurez, el sistema de vinificación, la cepa de levadura, el pH, las características del suelo, las condiciones en las que se realiza el prensado y el tiempo de contacto con las lías, la dosis y el tipo de clarificante empleado, y en el caso de los vinos espumosos, por el tiempo de crianza y por el tipo y la dosis del coadyuvante de tiraje empleado.[4] [5]

Los compuesto polifenólicos son aquellos que dan el color, estructura y cuerpo al vino. La diferencia entre vinos blancos y tintos, son debidas a los compuestos fenólicos que además, tienen la propiedad de coagular las proteínas y contribuir a la clarificación de los vinos. [6]

## **1.2. Fermentación alcohólica**

El vino es una bebida que se obtiene por fermentación alcohólica del mosto. Las levaduras transforman el azúcar de la uva en etanol y se desprende gas carbónico. Además, se producen otros co-productos fermentativos como son glicerol, ácidos orgánicos (acetato, succinato, piruvato) y alcoholes superiores y ésteres, que dan lugar a la formación de compuestos aromáticos que participan en las propiedades organolépticas del vino. [7]

Durante la fermentación alcohólica, la concentración del ácido tartárico disminuye por la precipitación en forma de cristales de bitartrato de potasio y de tartrato cálcico, provocada por el descenso de la temperatura y el aumento del grado alcohólico, pero su cristalización es muy lenta, sobre todo la del tartrato de calcio. [8]

Debido a la acción proteolítica de ciertas levaduras, durante la fermentación alcohólica desaparecen parte de las proteínas. Los taninos del mosto precipitan otra fracción, pero la mayoría de las veces los vinos blancos jóvenes conservan proporciones importantes. En estos vinos, ricos en proteínas, que no poseen apenas taninos, lo que ocurre es que no se produce la unión tanino-proteína y al cambiar las condiciones de pH o temperatura, las proteínas acaban precipitando y por consiguiente son susceptibles de producir la quiebra proteica, generando inestabilidad en el vino. [9] [10].

Los vinos tintos prácticamente no contienen proteínas en estado libre puesto que precipitan al unirse con los taninos, formando un complejo tanino-proteína asimilable a un coloide hidrófobo negativo que flocula bajo el efecto de los cationes. La precipitación de las proteínas, es causa de inestabilidad en vinos blancos y se conoce

como quiebra proteica, la cual suele aparecer en botella, durante su conservación a temperaturas altas, si previamente no se eliminan.

### **1.3 Clarificación y estabilización del vino**

La limpieza y la brillantez del vino son fundamentales y necesarias para no perturbar las cualidades visuales de los vinos y favorecer la demanda del consumidor especialmente en los vinos blancos.

La clarificación se produce de forma natural con el paso del tiempo, pero en la mayoría de los casos, se suelen realizar de forma artificial para poder sacar los vinos al mercado en un momento dado y para evitar que las sustancias presentes en el vino produzcan alteraciones, antes de que el vino sea comercializado.

La limpidez y la estabilidad se logran en el vino por procedimientos físicos como el frío, la filtración, la centrifugación, los trasiegos y con procedimientos químicos, usando distintos agentes para realizar la clarificación. Los físicos, solamente nos permiten extraer o eliminar partículas causantes de la turbidez y microorganismos (estabilidad biológica). Con procesos químicos (adición de colas) se consigue la estabilidad fisicoquímica deseada. [11] [12]

Las técnicas de estabilización, además de eliminar los problemas de inestabilidad, pueden eliminar también, compuestos favorables para el vino, como son los aromas y polifenoles, modificando las características organolépticas del vino. [7]

#### ***1.3.1. Encolado***

Consiste en añadir a un vino turbio, sustancias capaces de coagular y sedimentar, arrastrando las partículas en suspensión causantes de la turbidez del vino, dejando el vino clarificado. Los objetivos del encolado son clarificar el vino mediante la floculación de los turbios, estabilizar el vino favoreciendo o impidiendo la precipitación de sustancias coloidales que pueden formar turbios al cabo del tiempo y mejorar organolépticamente los vinos eliminando aromas a oxidación o suavizando taninos. Estas colas pueden ser orgánicas como cola de pescado o inorgánicas como la bentonita.[13] [7]

#### **1.4. Proteínas y quiebra proteica**

El contenido en proteínas de los mostos depende de la variedad, de la madurez del tipo de vendimia (manual o a máquina) de las operaciones prefermentativas y del sulfitado de la vendimia.. La vendimia mecánica, es considerada uno de los mayores factores de la inestabilidad proteica de los vinos de ciertas variedades como Sauvignon Blanc. Por ello, en la actualidad, se ha aumentado la dosis de bentonita en determinados vinos para poder estabilizarlos y evitar la quiebra proteica. Generalmente se utilizaban dosis de 20 a 40 g/Hl y ahora se están llegando a aplicar dosis de 80 a 120 g/Hl. Como consecuencia de ello, se producen pérdidas aromáticas importantes y esto es un grave problema para los vinos blancos. [7] [14]

#### **1.5. Bentonitas**

Es una de las colas inorgánicas más utilizadas, de origen mineral, concretamente, silicato de aluminio hidratado. El tratamiento con bentonita se puede utilizar para clarificar y para estabilizar los vinos. En los blancos se utiliza para prevenir turbiedades proteicas y en los vinos tintos para clarificar y estabilizar la materia colorante coloidal. [15]. Las variaciones de las características organolépticas dependen mucho de la cantidad de cola adicionada ya que pueden causar modificaciones positivas o negativas en el vino. [7]

Durante mucho tiempo, se recomendó el uso de bentonita sobre los mostos o durante la fermentación, antes que sobre los vinos acabados para estabilizar los vinos blancos. La bentonita adicionada en mosto reduce la cantidad de manipulaciones, las pérdidas de líquido, elimina parcialmente la tirosina (protección del mosto contra la oxidación), estimula la marcha de la fermentación y también absorbe residuos de fungicida. [6, 7]

#### **1.6. Nanoesponjas**

Además del uso de las colas y tratamientos ya comentados para la clarificación y estabilización del vino, en los últimos años se están empleado nuevos productos enológicos para conseguir una mejor estabilización y menor pérdida de las cualidades organolépticas de los vinos. En este trabajo se va a estudiar un nuevo producto, las nanoesponjas o microesponjas, para estabilizar proteicamente los vinos.

Las nanoesponjas son ciclodextrinas que son oligosacáridos cíclicos (anillos) constituidos por 6, 7 u 8 unidades de glucopiranososa o glucosa. Las unidades de glucosa

están unidas por enlaces 1-4 glicosídicos que generan las  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  ciclodextrinas. La parte exterior del anillo es hidrófila y la parte interior es hidrófoba, favoreciendo la unión con moléculas que son insolubles en agua.

Se está estudiando el efecto de diferentes dosis y distintos momentos de adición para eliminar la inestabilidad proteica, y si es posible, mejorar la calidad sensorial de los vinos. [16, 17]

## **2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**

Una de las características más importantes que se perciben en un vino, sobre todo de un vino blanco, es su aroma. Este atributo influye en la calidad y por ello el consumidor lo tiene en cuenta a la hora de comprar vino. Asimismo, la presencia de turbios en la botella supone el rechazo inmediato. Por tanto, es importante sacar al mercado vinos limpios, brillantes y con elevada calidad aromática.

El objetivo de este proyecto es estudiar y comparar la influencia de un nuevo material, nanoesponja, frente a la bentonita usada normalmente para conseguir estabilizar los vinos blancos desde el punto de vista proteico. Usando este producto para estabilizar el vino, se pretende mantener los aromas positivos del vino, y eliminar aquellos aromas desagradables que puede incluso echar a perder un vino y dejarlo brillante y limpio.

## **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

Para la realización de este proyecto, se utilizó mosto de uva blanca (variedad Sauvignon Blanc) con las siguientes características:

**Tabla 1:** Características del mosto recibido para la realización del estudio.

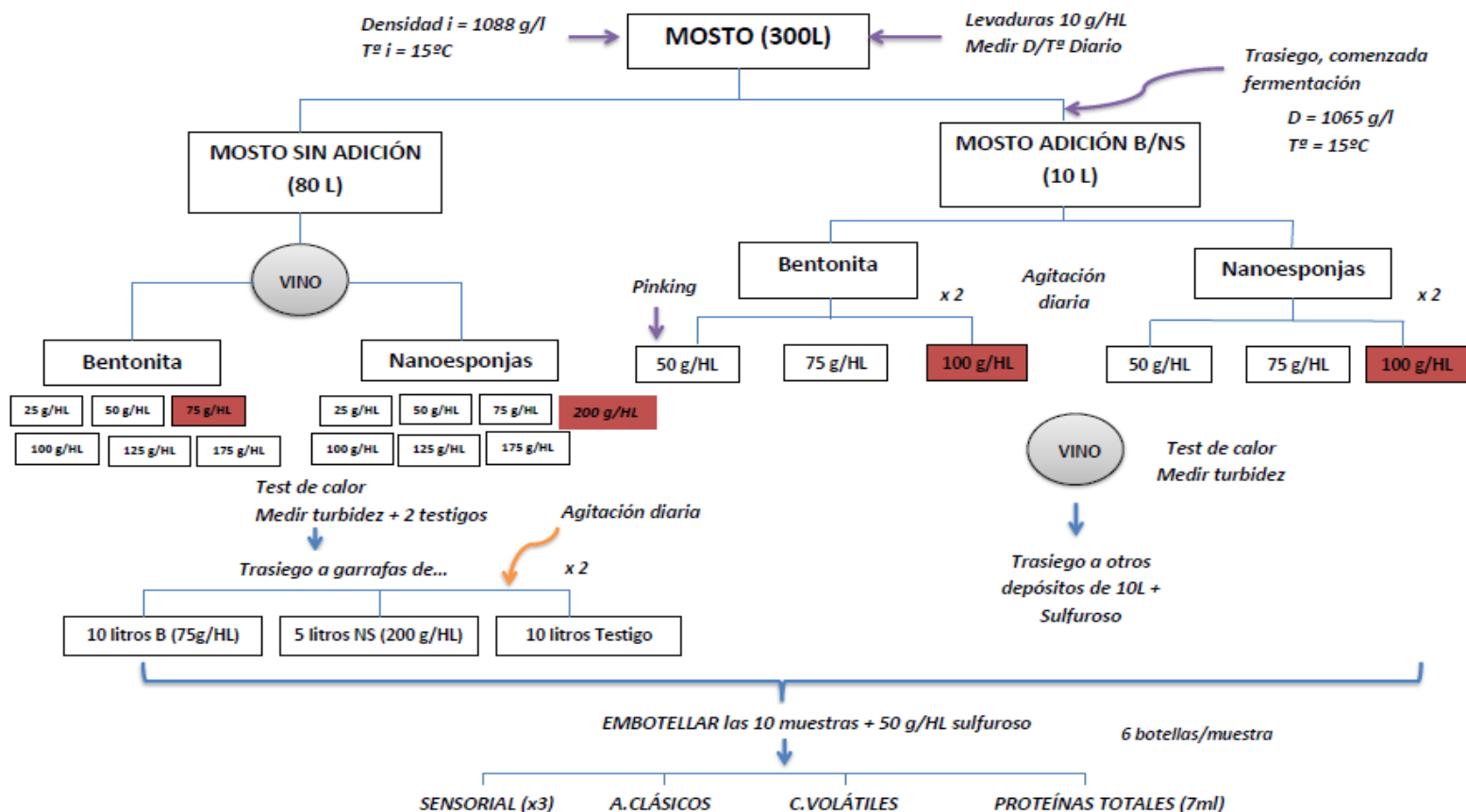
Variedad	Añada	Origen	Estado	Analítica inicial	
				pH	3,41
Sauvignon Blanc	2014	Bodega Viñas del Vero, Barbastro (Huesca) D.O. Somontano	Desfangado	FAN (mg/l)	291,2
				A.T (g/l)	6,22
				Densidad (g/l)	1088
				T <sup>a</sup> (°C)	15
				Turbidez (NTU)	224

El mosto antes de comenzar la fermentación alcohólica se repartió en depósitos de 10L (figura 1) a los que se les inoculó levaduras secas activas (LSA). Se añadieron 10 g/HL de levaduras a todos ellos, *Saccharomyces cerevisiae*, RVA (Agrovin, España). En estos depósitos, cuando comenzó la fermentación (la densidad había bajado 20 unidades), aproximadamente tres días después de la adición de levaduras, se añadieron diferentes concentraciones de bentonita y nanoesponjas (50, 75 y 100 g/hl.). Todos los ensayos se hicieron por duplicado. Para hacer los ensayos en vino se fermentaron 2 depósitos de 80 L con mosto sin ninguna adición. Durante la fermentación se tomaron muestras todos los días para medir la densidad y la temperatura de los depósitos grandes y se observó la evolución de la espuma en los de 10 L. Al finalizar la fermentación (6-7 días de duración aproximadamente), los vinos obtenidos de los tratamientos con los aditivos se decantaron. La bentonita utilizada fue *Bentogran* en forma granular a microdosis de empleo (10-60g/HL) y composición E558 Bentonita (hidro silicatos de aluminio). Las nanoesponjas que se utilizaron no son comerciales, se sintetizaron en la Universidad de Turín. Las dosis utilizadas fueron de 50 a 200 g/hl.

Al acabar la FA el vino obtenido en los depósitos control se repartió en distintos depósitos de 10 L a los que se les adicionaron las concentraciones de bentonita y nanoesponjas calculadas con el test de calentamiento y se dejó parte del vino como control. Todos los ensayos se realizaron por duplicado. Para la realización del test de calor, se tomó vino de los depósitos y se colocó en tubos falcon en diferentes concentraciones de bentonita y nanoesponja (25, 50, 75, 100, 125 y 175 g/hl). Se mantuvieron en agitación durante 2 horas, se centrifugaron durante 15 minutos depositándose los sólidos al fondo y el sobrenadante se trasvaso a otros tubos falcon. Después, se llevaron a un baño de ultrasonidos, por el exceso de CO<sub>2</sub>, durante 1-2 minutos. Tras ello, se midió la turbidez, se calentaron las muestras a 80°C durante 30 minutos y se dejaron enfriar durante 40 minutos. Tras el enfriamiento se midió de nuevo la turbidez. Tras la realización del test de calor, se seleccionaron dosis de 75 g/HL de bentonita y 200 g/HL de nanoesponja. Las dosis seleccionadas se adicionaron a los depósitos de 10 L con vino obtenido sin tratamiento. Se dejaron en reposo durante 4 días. En el vino tratado en el mosto, se seleccionaron dosis de 100 g/HL de bentonita y de nanoesponja para los análisis posteriores. Se realizó un trasiego de todos los depósitos seleccionados y el vino se embotelló en botellas de 500 ml añadiendo a cada una 50 g/HL de sulfuroso. De todos los vinos obtenidos se tomaron alícuotas para

estudiar parámetros clásicos enológicos, aromas (cromatografía gaseosa) y parámetros para determinar si los vinos eran estables a nivel de proteínas y de bitartrato (cromatografía líquida).

**Figura 1:** Esquema completo del experimento llevado a cabo diferenciando la adición de bentonita y nanoesponja en mosto y en vino y destacando en rojo y negrita las dosis elegidas en cada tratamiento, así como los trasiegos y los análisis realizados posteriormente.



### 3. 1. Análisis

#### 3.1.1. *Test de calor*

Indica si el vino es estable o no a la precipitación proteica. Se cogieron muestras de vino de 50 ml y se centrifugaron a 4500 rpm durante 15 minutos. En el sobrenadante se midió la turbidez mediante un nefelómetro portátil HI 93703 C D HANNA, que mide en unidades nefelométricas de turbidez (NTU). Se calentaron las muestras de vino al baño maría a 80°C durante 30 minutos, se dejaron enfriar 4 horas y se midió de nuevo la turbidez. [18]

### 3.1.2. *pH y Acidez Total*

La determinación del pH en el mosto y el vino es una medida complementaria de la acidez total porque nos permite medir la fuerza de los ácidos que contienen. Se determinó experimentalmente midiendo la diferencia de potencial entre el electrodo de referencia y el de lectura de pH sumergidos en el vino. [19]

La acidez total (AT) es la suma de los ácidos valorables del vino y mosto cuando se lleva el pH a 7 por adición de una solución de hidróxido de sodio. 7. La AT en vino y mosto se expresó en g/L de ácido tartárico.

### 3.1.3. *Acidez Volátil*

La acidez volátil está constituida por los ácidos pertenecientes a la serie del ácido acético que se encuentran en el vino libres o combinados formando sales. La determinación se efectúa mediante la separación de los ácidos volátiles con arrastre de vapor de agua y rectificación de los vapores. La acidez volátil se determinó experimentalmente según el *método García-Tena* que se basa en una destilación fraccionada del vino una vez eliminado el dióxido de carbono y una posterior valoración ácido-base de la segunda porción del destilado. La acidez volátil se expresa en g/L de ácido acético.

### 3.1.4. *Anhídrido sulfuroso*

Se llama anhídrido sulfuroso libre al que se encuentra en estado de  $\text{SO}_2$  y en estado de combinaciones minerales  $\text{SO}_3\text{H}_2$ ,  $\text{SO}_3\text{H}^-$  y  $\text{SO}_3^{3-}$ . Aunque el método oficial sea el *Rankine*, en este caso se determinó el sulfuroso por el *método de Ripper* que es un método usual. La determinación del dióxido de azufre se basa en una valoración de óxido reducción usando yodo como reactivo valorante en medio ácido en presencia de almidón. [19]

### 3.1.5. *Grado alcohólico*

Se determinó por destilación simple, del líquido neutralizado, y medida de la densidad del destilado por aerometría [20]

### **3.1.6. Azúcares reductores**

El método se basa en las propiedades reductoras de los azúcares. Se determinaron indirectamente valorando el Cu sin reaccionar del vino comarandolo con el de un testigo [19]

### **3.1.7. Ion potasio**

Para medir concentraciones y actividades del ion potasio se utilizó un electrodo selectivo de potasio de la marca *Crison*. En primer lugar, se realizó una recta de calibrado, para ello se usaron disoluciones de concentraciones decrecientes de potasio (0,01; 0,0015; 0,001 y 0,0001 M). Para el tratamiento de las muestras, se tomaron los siguientes volúmenes de muestra patrón (KCl 0,1M): 5; 0,75; 0,5 y 0,05 ml respectivamente. Se llevaron todos al mismo volumen, a 50 ml con agua destilada y se ajustó la fuerza iónica con NaCl (100 µl). Por último, se midió el potencial de cada una de las muestras (mV).

### **3.1.8. Absorbancia a 420 nm**

Para conocer la evolución del color de las muestras se midió la absorbancia de las mismas a una longitud de onda de 420 nm. Para ello se utilizó un espectrofotómetro UV-1700 PharmaSpec, Shimadzu, UV-visible, utilizando cubetas de cuarzo. Primero se realizó un blanco y seguidamente la medida de cada muestra (filtradas previamente).

### **3.1.9. Estabilidad tartárica**

Se determinó la estabilidad tartárica del vino blanco por dos métodos, mediante la medida de conductividad de Davis o Test de Mini-contacto y mediante la determinación de la concentración de ácido tartárico por HPLC.

#### **3.1.9.1. Test de conductividad de Davis**

Este test se basa en la diferencia de conductividad que se obtiene cuando precipitan las sales de bitartrato a bajas temperaturas.

Después de calibrar el conductímetro (Figura 2) se pusieron 100 ml de vino en un vaso de precipitados, se llevaron a 0°C en un baño y se midió la conductividad inicial a esa temperatura. Seguidamente se añadió 1 g de bitartrato potásico micronizado (activador de cristalización por proceso de contacto) (*Laffort*). La disolución se agita durante 6



minutos. Se anotan las conductividades a los 4 y a los 6 min. La adición de esta sal y la baja temperatura facilita la formación de cristales al actuar como punto de nucleación.

**Figura 2:** EC-Meter BASIC 30 Crison.  
Célula conductividad + Pt 1000



### 3.1.9.2. Cromatografía líquida HPLC

Se determinó la concentración de ácido tartárico por cromatografía líquida de alta resolución antes y después de permanecer el vino en un baño a  $-4^{\circ}\text{C}$  durante 6 días, para saber si el vino es estable o no. El baño que se utilizó fue un equipo de refrigeración NESLAB RTE-101. Las muestras se mantuvieron en el baño en viales de 4 mL.

Además, se analizaron los ácidos orgánicos tartárico, málico, láctico, acético, cítrico y succínico de las diferentes muestras de vino.

El equipo HPLC (figura 3) utilizado fue un sistema *Waters Alliance* que consta de un módulo de separación 2695, con un detector de múltiples longitudes de onda (*Varian Prostar 330 Photodiode Array Detector*), una columna  $250 \times 4,60$  mm 5 micras 100 Å (*Luna 5u C18*) de Analytical Phenomenex y un horno de la casa comercial *Waters*, manteniendo la temperatura a  $25^{\circ}\text{C}$ . La cuantificación se llevó a cabo mediante la determinación de la absorbancia a 210 nm e interpolación en la recta de calibrado. El tiempo de duración de un cromatograma fue de 25 minutos y para llegar al mismo, se partió de 25 minutos como tiempo de adquisición. Se trabajó en isocrático, manteniendo siempre la misma fase móvil ( $5 \cdot 10^{-3}$  M de ácido ortofosfórico en agua MiliQ). Una vez preparada la disolución fue necesario sonicar. Los eluyentes utilizados fueron ácido ortofosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ )  $5 \cdot 10^{-3}$  M en agua MiliQ y metanol 100% y se inyectó un volumen de 20  $\mu\text{L}$ . Para limpiar los cartuchos y poder reutilizarlos, se pasa por ello fase móvil ( $\text{H}_3\text{PO}_4$   $5 \cdot 10^{-3}$  M) y seguidamente metanol.

- Tratamiento de la muestra: se realiza una filtración previa de los ácidos usando cartucho de Sep-Pak C-18 (figura 4). En primer lugar, se realiza la regeneración de la resina con 2 ml de metanol y 2 ml de  $\text{H}_3\text{PO}_4$   $5 \cdot 10^{-3}$  M. Seguidamente, se adiciona 1 mL de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  1 N y 1 mL de vino para modificar el pH del vino. Tras ello, se procede al arrastre total de los ácidos desde la resina con  $\text{H}_3\text{PO}_4$   $5 \cdot 10^{-3}$  M hasta alcanzar un volumen de 10 mL (las muestras se filtraron por 0,45  $\mu\text{m}$ ). Después, se tomaron alícuotas de cada muestra filtrada, se pasaron a los viales específicos para HPLC y se introdujeron en el equipo.

**Figura 3:** Equipo HPLC Waters Alliance



**Figura 4:** Cartucho de Sep-Pak C-18 de 200 mg



### 3.2. Análisis sensorial

Se realizaron varios test triangulares (figura 5) para evaluar, tanto a nivel olfativo como gustativo, las distintas muestras de vino, tratadas con bentonita, nanoesponja o sin tratar, y comprobar si presentaban diferencias significativas entre ellas.

El test triangular es un método muy usado para determinar si existen diferencias a nivel sensorial entre distintas muestras. Al catador se le presentan tres muestras simultáneamente, dos de ellas son iguales y una diferente, se le pide señalar la diferente y comentar acerca de la naturaleza de la diferencia.

**Figura 5:** Copas opacas utilizadas en los test triangulares realizados



### **3.3. Compuestos volátiles**

Se utilizaron diferentes métodos para la determinación de los distintos compuestos volátiles del vino (mayoritarios, trazas y mercaptanos polifuncionales).

#### ***3.3.1. Método para la determinación de aromas mayoritarios (microextracción y análisis GC-FID)***

Se tomaron 3 ml de vino y 7 ml de agua, se salaron con 4,5 g de sulfato de amonio, y se extrajo con 200  $\mu$ L de diclorometano. Después, el extracto se analizó por GC con detección FID. Los datos cuantitativos se obtuvieron por interpolación de las áreas relativas de los picos en los gráficos de calibración, construidas por el análisis de los vinos sintéticos que contienen cantidades conocidas de los analitos 2 - butanol, 4 -metil- 2 - pentanol, 4 -hidroxi- 4 -metil- 2 - pentanona, y 2 -octanol , a una concentración de 200  $\mu$ g / g en diclorometano , se utilizaron como estándares internos. [21]

#### ***3.3.2. Método para la determinación de aromas minoritarios (SPE y GC-trampa de iones-MS Analysis)***

Los cartuchos SPE estándar (1 ml de volumen total) se rellenaron con 200 mg de resinas LiChrolut ES y se colocaron en el sistema de extracción de colector de vacío. El sorbente se acondicionó haciendo pasar a través de los cartuchos 4 ml de diclorometano, 4 ml de metanol y 4 ml de una mezcla agua-etanol (12%, v / v). Así, los cartuchos se cargaron con 50 ml de muestra de vino y 26  $\mu$ L de una solución estándar que contenía 3-octanona,  $\beta$ -damascona y ácido heptanoico (todos a 200  $\mu$ g g<sup>-1</sup> de etanol). Esta mezcla se pasó a través de los cartuchos de SPE (2 ml min<sup>-1</sup>), seguido de una etapa de lavado utilizando 5 ml de 30% de metanol-agua, solución de NaHCO<sub>3</sub> 1%. Las resinas se secaron por el paso de aire (presión negativa de 0,6 bar, 10 min). Los analitos fueron recuperados en un vial de 2 ml por elución con 1,6 ml de diclorometano. A la muestra eluida se añadieron 34  $\mu$ l de una solución de patrón interno (300 mg L<sup>-1</sup> de 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona y 2-octanol). El extracto se analizó mediante GC con detección MS de trampa de iones. Se utilizó un cromatógrafo de gases GC-450 montado en una trampa de iones Varian Saturno 2200 MS. [22]

### ***3.3.3. Método para la determinación de mercaptanos polifuncionales***

Este método se realizó para analizar 2-furfuriltiol, 4-metil-4-mercapto-2-pentanona, acetato de 3-mercaptohexilo, 3-mercaptohexanol, 2-metil-3-furano tiol y bencilmercaptano en las diferentes muestras.

Los mercaptanos fueron retenidos en un cartucho, directamente se derivatizaron en la fibra, pasando primero a través de una solución de 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU)(6,7%). El cartucho se empapó con una solución de bromuro de pentafluorobencilo (PFBBR). Los analitos derivatizados se eluyeron con 600 µl de una mezcla disolvente (hexano 25% en éter dietílico). El eluido se lavó cinco veces con 1 ml de salmuera (200 g solución de agua / L NaCl), se transfirió a un vial de 2 ml, y se trataron con una pequeña cantidad de sulfato de sodio anhidro. Se inyectaron 4 µL de esta muestra en el modo splitless frío en la ionización química (NCI) sistema de MS-GC negativo. El aparato era un cromatógrafo de gases *Shimadzu QP-2010Plus* con un sistema cuadrupolo de detección de espectrometría de masas. [23]

### **3.4. Análisis estadístico**

Se realizaron estudios ANOVA de un factor para saber si existían diferencias significativas en los diferentes compuestos volátiles (mayoritarios, trazas y mercaptanos polifuncionales) de los vinos obtenidos con los distintos tratamientos (bentonitas, nanoesponjas, control). Se trabajó a un nivel de significatividad del 95%. En los compuestos con  $p < 0,05$  se realizó un test DUNCAN (test de comparación múltiple), que permitió comparar las medias de los niveles de un factor.

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

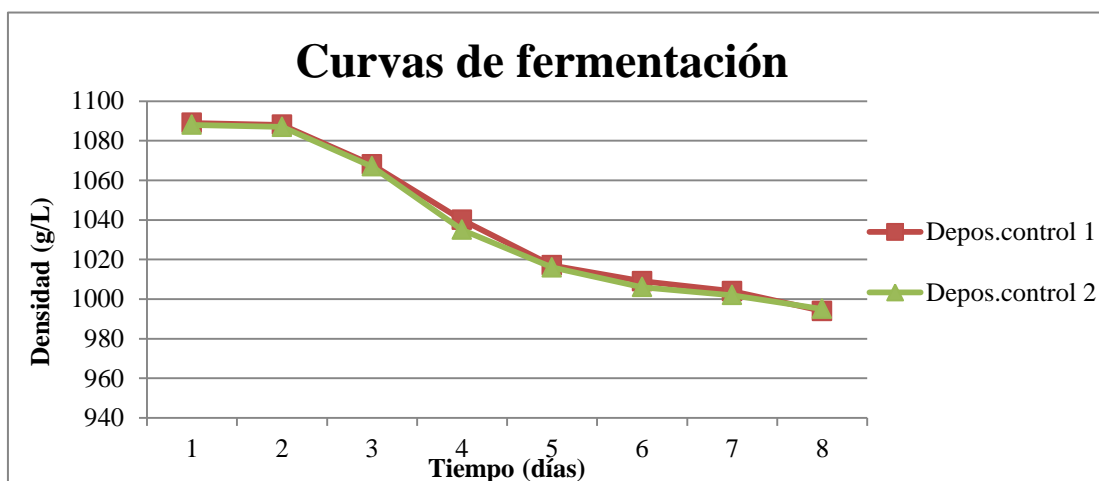
En este trabajo se ha llevado a cabo un estudio comparativo del uso de dos sustancias, bentonita frente a un nuevo material, nanoesponja, para estabilizar proteicamente vinos blancos de la variedad Sauvignon Blanc. Se probaron dos momentos distintos en la adición (en el mosto o en el vino obtenido al acabar la fermentación alcohólica) para determinar si existían diferencias en la efectividad del tratamiento en función del momento de adición de dichos compuestos y se probaron varias dosis.

#### 4.1. Curvas de fermentación

La fermentación alcohólica se desarrolló a temperatura constante de 18°C en una cámara. A lo largo de la misma, se midió diariamente la densidad del mosto de los depósitos control.

Con los datos de las densidades de los depósitos grandes se realizaron dos curvas de fermentación, relacionando densidad y tiempo (figura 6), cada una correspondiente a un depósito control. Se puede observar que la densidad disminuye regularmente en ambos depósitos. El mosto inicial tiene una densidad de 1089 g/L, y tras consumir las levaduras todo el azúcar del mosto, la densidad final fue de 994 g/L. La fermentación alcohólica duró 8 días aproximadamente.

**Figura 6:** Evolución de la fermentación alcohólica del mosto en los dos depósitos



Al finalizar la fermentación se midió la densidad en todos los depósitos (tabla 2). Como podemos observar todos acabaron con una densidad inferior a 995, lo que indica que están secos.

**Tabla 2:** Densidades de los vinos tratados con bentonita y nanoesponjas en el mosto a distintas dosis al finalizar la fermentación.

g/hl	50	50	75	75	100	100
Nanoesponja	994	993	995	995	993	994
Bentonita	994	993	993	993	991	991

## 4.2. Estabilidad proteica

Se midió la turbidez de los vinos, antes y después de calentar. Los resultados se muestran en la tabla 4. Un vino se considera estable respecto a la precipitación proteica, cuando la diferencia de turbidez antes y después del calentamiento es inferior a 2 NTU (unidades nefelométricas de turbidez).

### 4.2.1. Estudio de la estabilidad proteica de los vinos obtenidos con los mostos tratados

En los vinos tratados en mosto se aprecia (tabla 3) una clara disminución de la turbidez conforme aumenta la concentración de bentonita y nanoesponja. Con las dosis de 100 g/HL las diferencias de turbidez fueron las más pequeñas. Para la bentonita 2,26 NTU y para la nanoesponja 2,64 NTU. Cuando la diferencia es inferior a 2 se considera el vino estable.

**Tabla 3:** Diferencia de turbidez en vinos obtenidos con los mostos tratados con distintas dosis (g/HL) de bentonita y nanoesponjas

Vinos tratados en mosto	50	75	100
B	26,6	6,08	2,26
NS	7,17	4,49	2,64

Se escogen los vinos tratados con dosis de 100 g/hl para los estudios posteriores.

### 4.2.2. Estudio de la estabilidad proteica de los vinos tratados tras finalizar la fermentación alcohólica

Para calcular las dosis en los tratamientos en vino se ha realizado el test de calor.

**Tabla 4:** Variación de turbidez de los vinos después del test de estabilidad proteica a distintas dosis de bentonita y nanoesponjas

Vinos tratados en vino	25	50	75	100	125	175
B	15,2	0,15	2,23	-0,82	2,55	0,74
NS	20,6	18,1	10,9	10,3	5,35	4,22

Como vemos en la tabla 4, los vinos tratados con bentonita son estables a dosis de 50 g/HL de bentonita. Para realizar las pruebas en vino se adicionaron dosis de 75 g/HL ya que se produjeron variaciones en su determinación (sube y baja la turbidez a dosis mayores). Para las nanoesponjas, como puede verse en la tabla, con las dosis probadas no se consigue eliminar todas las proteínas inestables por lo que se decidió añadir una dosis superior, 200 g/HL. Las dosis seleccionadas para cada aditivo se repartieron en los depósitos de 10 litros llenos del vino obtenido a partir del mosto sin ningún tratamiento. Se dejaron en reposo durante 4 días y transcurrido este tiempo, se cogieron muestras para su análisis posterior.

Los resultados indican que el tratamiento con bentonita en mosto es menos eficaz que en vino ya que se necesitan dosis mayores para conseguir que los vinos sean estables. Sin embargo, con las nanoesponjas, el tratamiento en mosto es más eficaz, porque se necesitan dosis inferiores para estabilizar los vinos. Estos resultados no coinciden con estudios realizados, *Lira (2015 [24])* concluyó que para los vinos tratados durante la fermentación es necesario una menor dosis de bentonita y *Lambri (2012) [25]* encontro que el tratamiento más eficaz contra la inestabilidad proteica era en mosto.

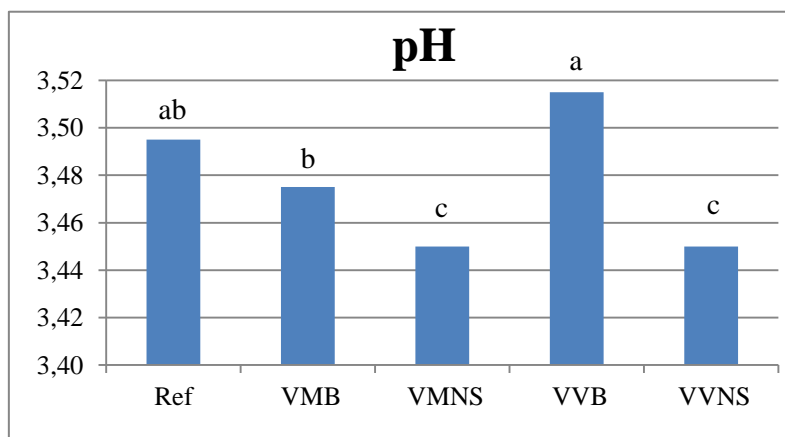
#### **4.3. Efecto de los tratamientos en los parámetros clásicos**

Tanto en los vinos obtenidos de los mostos tratados (VMB y VMNS) como en los vinos tratados después de acabar la fermentación alcohólica (VVB, VVNS) y en el control, vino sin tratar (REF), se realizaron los siguientes análisis: pH, Acidez Total, Acidez Volátil, Sulfuroso libre y total, Conductividad, Ion Potasio, Absorbancia a 420 nm y Azúcares Reductores.

Para saber si existen diferencias significativas entre los distintos tratamientos se realizó un estudio ANOVA de un factor y el test Duncan. Se obtuvieron diferencias significativas para pH, Potasio, Absorbancia, Sulfuroso libre y total y también para la conductividad.

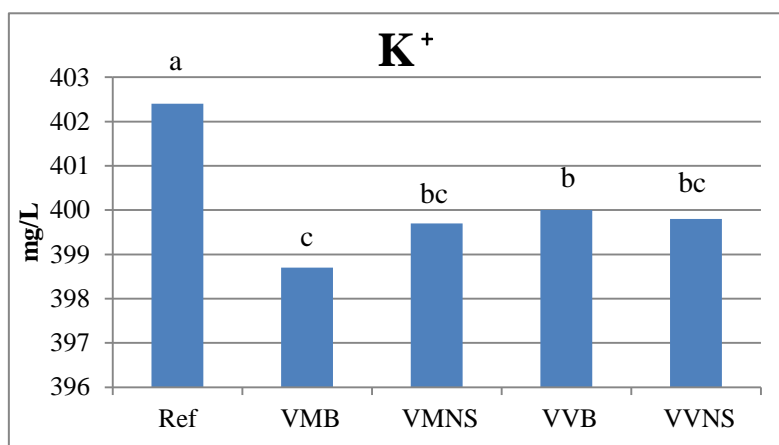
Los resultados obtenidos para todos los parámetros analizados se muestran en la tabla 1 del anexo. Para aquellos parámetros con diferencias significativas se han preparado una serie de gráficas con el objetivo de visualizar mejor los efectos de los distintos tratamientos.

**Figura 7.** Variación del pH en los vinos tratados con bentonita y nanoesponjas antes y después de la fermentación alcohólica.



En la figura 7 se observa que el pH es menor cuando se realiza el tratamiento con nanoesponjas independientemente del momento de adición de las mismas, a diferencia de los vinos tratados con bentonita, en los que el pH es más alto, sobre todo en los vinos obtenidos adicionando los aditivos al vino. Esto indica que la acidez del vino es mayor en los vinos tratados con nanoesponjas.

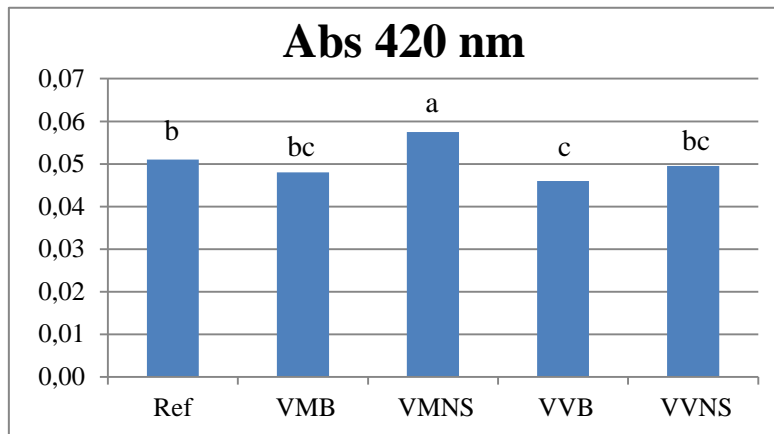
**Figura 8.** Variación de  $K^+$  en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



El potasio (figura 8) es significativamente menor en los vinos tratados tanto con bentonita como con nanoesponjas. Los menores valores de este parámetro se obtienen cuando se trata el mosto con bentonita.

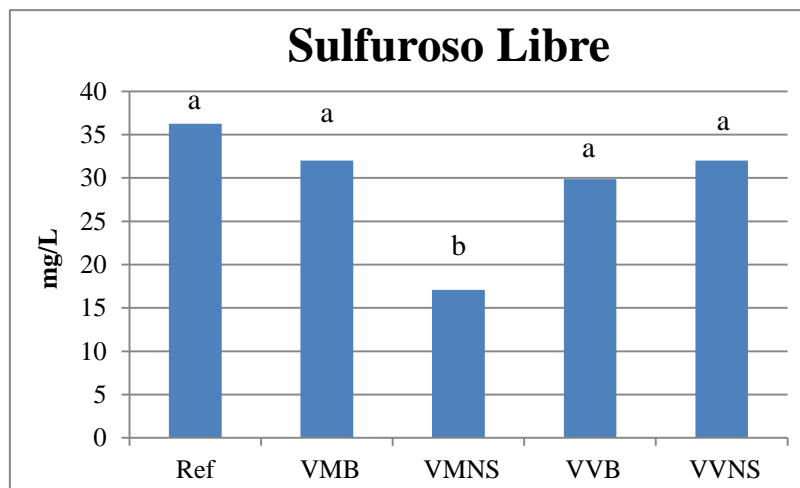


**Figura 9.** Variación de absorbancia a 420 nm en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.

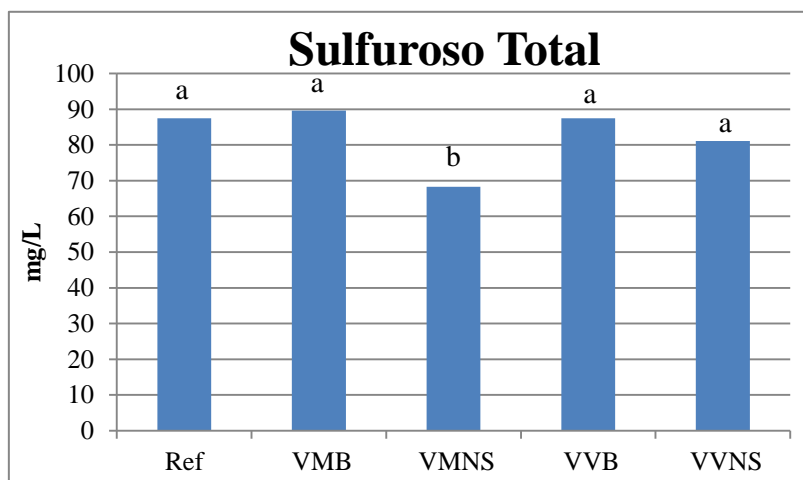


Respecto a la absorbancia a 420 nm (figura 9) que nos indica la cantidad de color amarillo de los vinos analizados, vemos que las diferencias aunque significativas son mínimas. Las absorbancias son muy bajas y el método es muy reproducible. Los valores más altos se obtienen cuando se trata el mosto con nanoesponjas. No se aprecia diferencia en el color a simple vista.

**Figura 10.** Variación de sulfuroso libre en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



**Figura 11.** Variación de sulfuroso total en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.

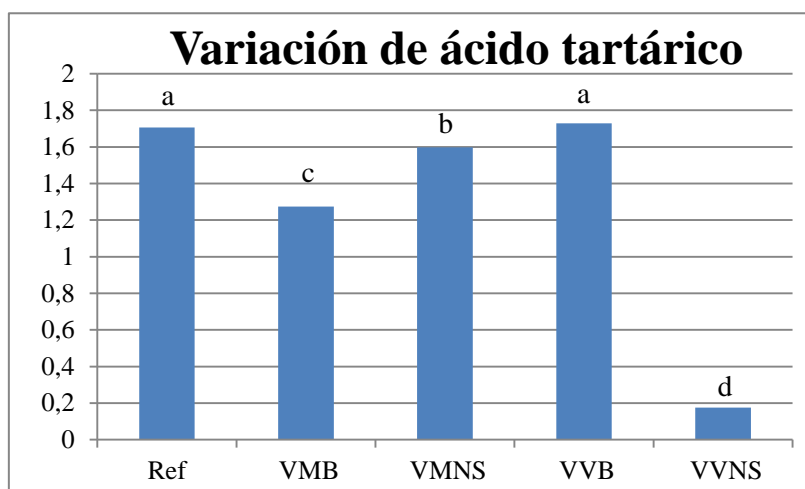


En las figuras 10 y 11, se aprecia que donde menor concentración de sulfuroso libre y total significativamente hay es en el vino tratado en el mosto con nanoesponjas y donde mayor concentración es en el vino tratado en el mosto con bentonita. Además se aprecia una disminución de sulfuroso libre respecto al control. La concentración máxima de sulfuroso libre es de 32 mg/L, la cual está dentro de los límites, ya que una concentración superior a 35 mg/L podría dar notas que causaran picor en la nariz. Los vinos tratados con bentonitas y la referencia no presentan diferencias significativas para el sulfuroso. La concentración máxima de sulfuroso total es de 89,6 mg/L.

Además, aunque no presenten diferencias significativas, se observa una disminución de acidez volátil con todos los tratamientos respecto al control, mientras que la acidez total aumenta respecto al control, a excepción del vino tratado en mosto con bentonita.

Pese a presentar diferencias significativas en 5 parámetros clásicos, éstas no tienen importancia a nivel enológico. Se han encontrado resultados similares en un estudio de *Lambri* (2012) [25].

**Figura 12.** Variación de la concentración de ácido tartárico en los vinos tratados con bentonita y nanoesponjas antes y después de la fermentación alcohólica.



En la figura 12 se muestra la variación de concentración de ácido tartárico en las distintas muestras medido antes y después de someter a los vinos a un enfriamiento a -4 grados durante 6 días. Aunque se aprecian diferencias significativas, entre la referencia y el resto de los vinos, el uso de bentonitas o nanoesponjas no consiguen eliminar la inestabilidad tartárica. La diferencia de concentración es muy superior a 0,1 g/L. Si la diferencia es menor de 0,1 los vinos son estables. El vino tratado con nanoesponjas tras la fermentación presenta una diferencia cercana a 0,10. Este es un resultado que puede ser interesante a nivel enológico, ya que se podrían usar estos compuestos también para estabilizar respecto al tartárico a los vinos, práctica habitual en bodega.

#### **4.4. Efecto de los tratamientos en los ácidos orgánicos**

Además de los parámetros clásicos se analizaron los ácidos orgánicos: Tartárico, málico, láctico, acético, cítrico y succínico. Se utilizó la técnica de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).

Al igual que en los análisis clásicos, para conocer si había diferencias significativas entre los distintos tratamientos se realizó un estudio ANOVA de un factor y el test Duncan. En este caso, no se obtuvieron diferencias significativas en ninguna de las concentraciones de los ácidos analizados, pero se puede observar que la mayoría de los ácidos disminuyen su concentración respecto al control con cualquiera de los

tratamientos, a excepción del vino tratado en el mosto con nanoesponja. Las concentraciones obtenidas para cada uno de ellos se muestran en la tabla 2 del anexo.

En los vinos que han sido tratados con bentonita, la disminución de ácidos orgánicos ha sido mayor que en los tratados con nanoesponjas, sobre todo en el ácido acético, que ha disminuido de 0,35 a 0,28 en VMB y a 0,25 en VVB. Este ácido puede llegar a ser un defecto en los vinos por lo que este nuevo efecto podría tenerse en cuenta a la hora de decidir el tratamiento de estabilización de los vinos.

#### **4.5. Efecto de los tratamientos en los aromas mayoritarios**

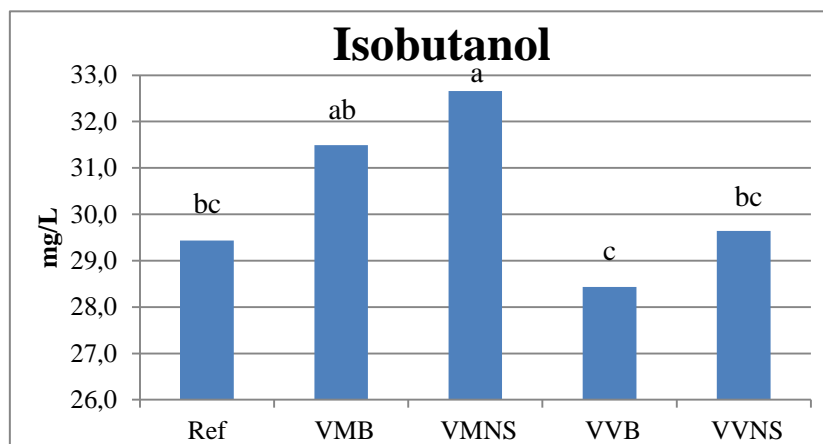
La calidad organoléptica de un vino depende en gran medida de sus características aromáticas, las cuales están correlacionadas con la presencia de compuestos volátiles mayoritarios (grupos de ésteres, alcoholes, ácidos y alguna lactona). Estos compuestos se generan fundamentalmente durante la fermentación alcohólica, debido al metabolismo de las levaduras. De estos compuestos, los alcoholes y los ésteres son los más importantes cuantitativamente. Los volátiles mayoritarios se encuentran en cantidades mínimas de 0,5-300 mg/L.

En la tabla 3 del anexo se presentan las concentraciones de aromas mayoritarios. Para los compuestos con diferencias significativas se han elaborado gráficas para comparar el efecto de los tratamientos. Con estos análisis se pretende estudiar si los tratamientos realizados producen una disminución de los aromas presentes en los vinos.

Como vemos en la tabla 3 del anexo ningún éster presenta diferencias significativas en función de los tratamientos. Este tipo de compuestos dan notas frutales, por ello interesa que se encuentren presentes en el vino, a excepción del acetato de etilo, que no interesa, ya que es el responsable del olor a picado.

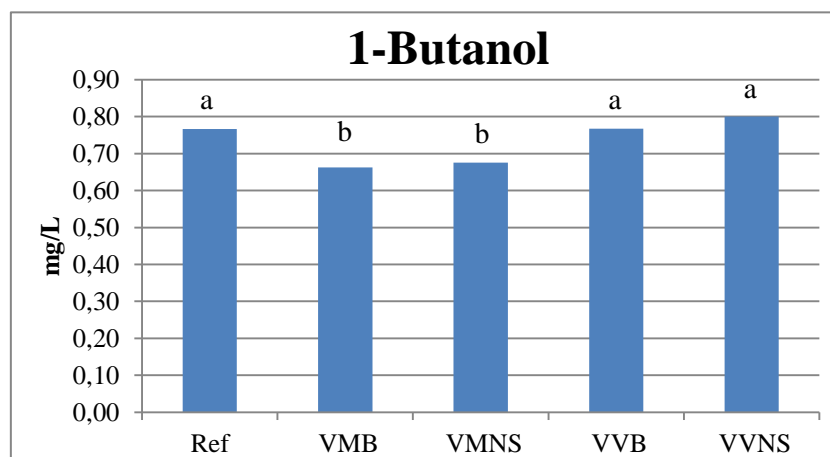
Los alcoholes (figuras 7, 8 y 9) influyen en el aroma del vino, con notas a fusel. Por ello, interesa que se encuentren en concentraciones bajas, al igual que los ácidos (figuras 10 y 11).

**Figura 13.** Variación de la concentración de isobutanol en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



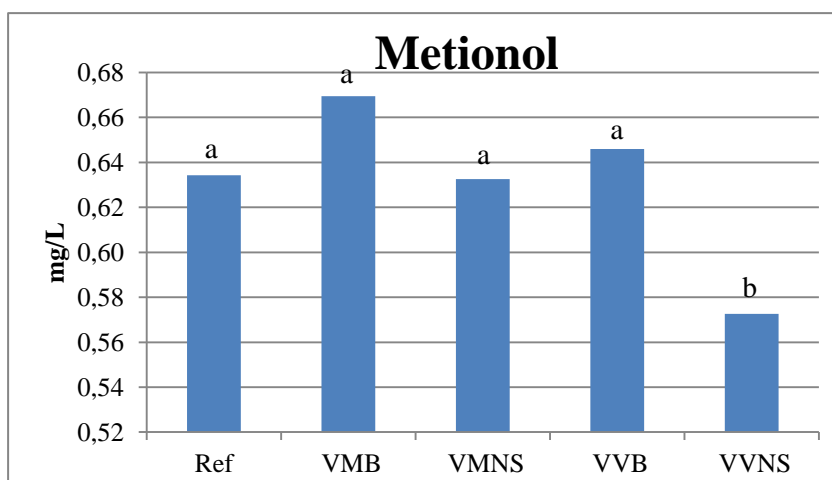
Respecto al Isobutanol (figura 13), se observa que los vinos tratados en el mosto tienen concentraciones superiores a las de los vinos tratados en vino. La concentración más elevada se encuentra en el vino tratado en el mosto con nanoesponja. Aunque unas concentraciones son más elevadas que otras, todas se mantienen por debajo del umbral de olor. Este compuesto da notas de amargor, que no interesan en el vino.

**Figura 14.** Variación de la concentración de 1-Butanol en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



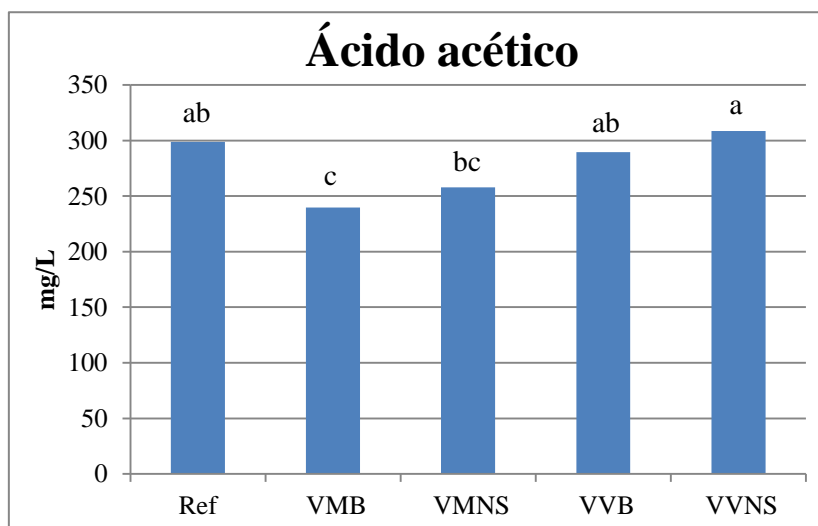
Pese a presentar diferencias significativas, el 1-Butanol (figura 14), no muestra mucha variación de concentración al ser tratado de diferentes formas. Se observa que los tratamientos en el vino, producen concentraciones ligeramente superiores que al ser tratado en el mosto.

**Figura 15.** Variación de la concentración de metionol en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.

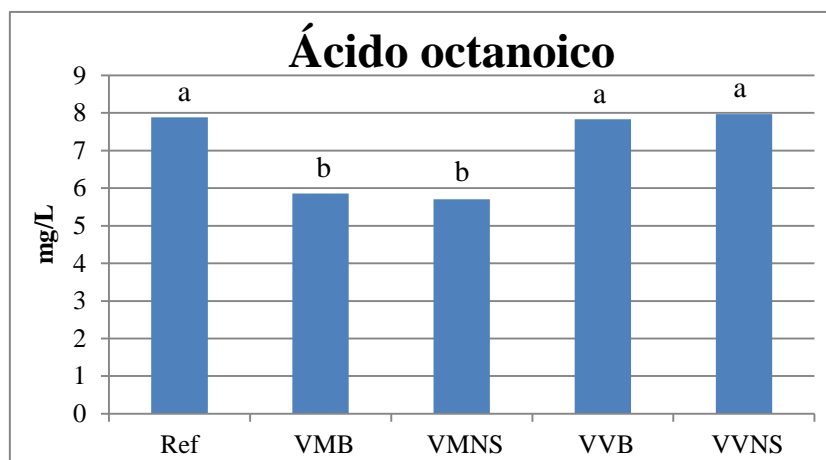


El metionol (figura 15) se encuentra en mayor concentración en los vinos tratados con bentonita en el mosto. Los valores están comprendidos entre 0,63 y 0,67 mg/L, a excepción del vino tratado en vino con nanoesponja, que tiene valores inferiores de metionol, 0,57 mg/L.

**Figura 16.** Variación de la concentración de ácido acético en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



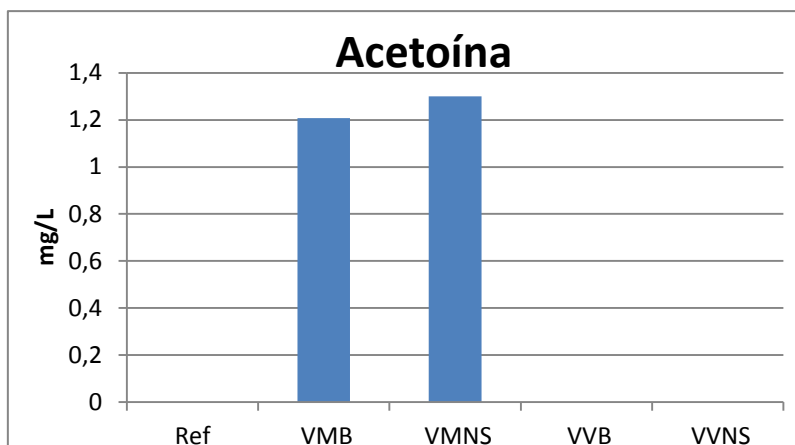
**Figura 17.** Variación de la concentración de ácido octanoico en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



En cuanto a los ácidos (figura 16 y 17), se encuentran en menor concentración en los vinos tratados en el mosto. El vino tratado en el vino con nanoesponja es el que mayor acético (300 mg/L) y octanoico (5,70 mg/L) presenta, seguido del vino tratado en vino con bentonita. Conociendo la cantidad de acético podemos ver el estado sanitario del vino y su conservación, interesa que haya poca concentración del mismo. Los valores de ácido acético, aunque sean superiores en los vinos tratados en vino con ambos compuestos, están dentro de los límites, ya que no llegan a los umbrales de olor. Esto es favorable puesto que este ácido da olores a graso o a vinagre.

En cambio, el ácido octanoico, supera los umbrales de olor, lo que no interesa demasiado ya que este compuesto da aromas a rancio que no son agradables. Además, donde menor concentración de este ácido hay es en los vinos tratados en el mosto, y concretamente la concentración inferior se encuentra en vino tratado con nanoesponja (5,70 mg/L).

**Figura 18.** Variación de la concentración de acetoína en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



La acetoína (figura 18) solo se encuentra presente en los vinos tratados en el mosto con ambos compuestos, bentonita y nanoesponja, en concentraciones bastante bajas de 1,2 y 1,3 mg/L, respectivamente.

En ninguno de estos compuestos mayoritarios, la pérdida de concentración debido a la adición de bentonita y nanoesponja afecta a nivel sensorial, ya que los compuestos que superan el umbral de olor, mantienen valores similares tanto en el control como en los vinos tratados con ambos compuestos. Los efectos de las bentonitas sobre estos compuestos ya han sido descritos por otros autores como *Moio* [26].

#### **4.6. Efecto de los tratamientos en los aromas traza**

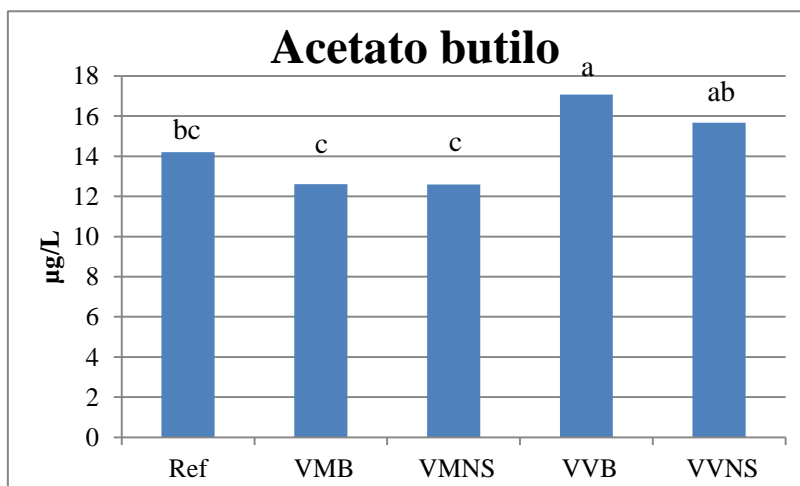
Pese a encontrarse en concentraciones inferiores (microgramos/L), los aromas traza también influyen en la calidad organoléptica (son compuestos con umbrales de olfacción muy bajos), aportando características aromáticas positivas al vino. Estos son ésteres, terpenos, norisoprenoides, fenoles volátiles y lactonas.

De todos ellos, los más destacados son los terpenos. Proviene de la propia uva, en las variedades consideradas neutras apenas existen de forma libre. La mayoría de este grupo se encuentra en forma de precursores glicosídicos. Durante la fermentación y envejecimiento del vino se produce su liberación debido a la acción enzimática de las levaduras y a la hidrólisis ácida. Entre los más abundantes se encuentran los alcoholes monoterpénicos tales como linalol,  $\beta$ -citronelol, y  $\alpha$ -terpineol.



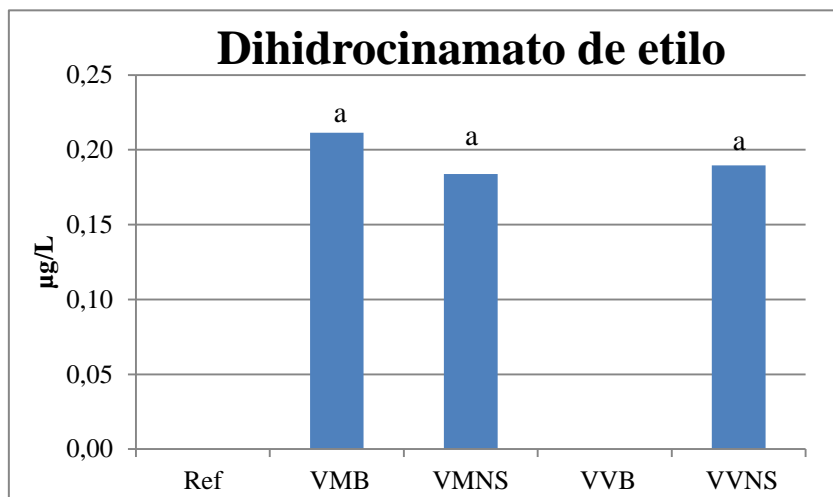
En la tabla 3 del anexo, se detallan las concentraciones de los aromas traza analizados. Se han elaborado gráficas para aquellos que presentan diferencias significativas.

**Figura 19.** Variación de la concentración de acetato butilo en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



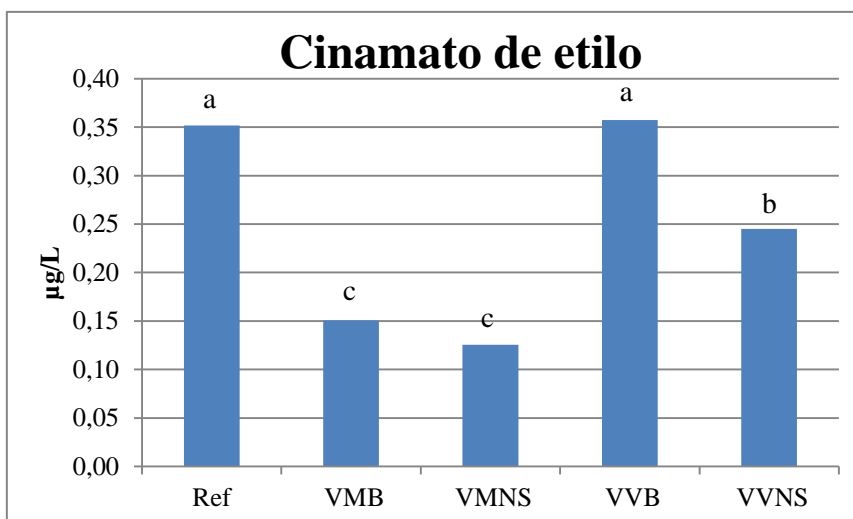
El acetato butilo (figura 19) se encuentra en menor concentración en los vinos tratados en mosto tanto con bentonita como con nanoesponja. Sin embargo, en los vinos tratados tras la fermentación, la concentración de este compuesto es mayor, siendo superior en aquel tratado con bentonita. Para este compuesto tratar el vino es mejor que tratar el mosto ya que da notas frutales. Las concentraciones obtenidas del compuesto están por debajo del umbral de olor.

**Figura 20.** Variación de la concentración de dihidrocinamato de etilo en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



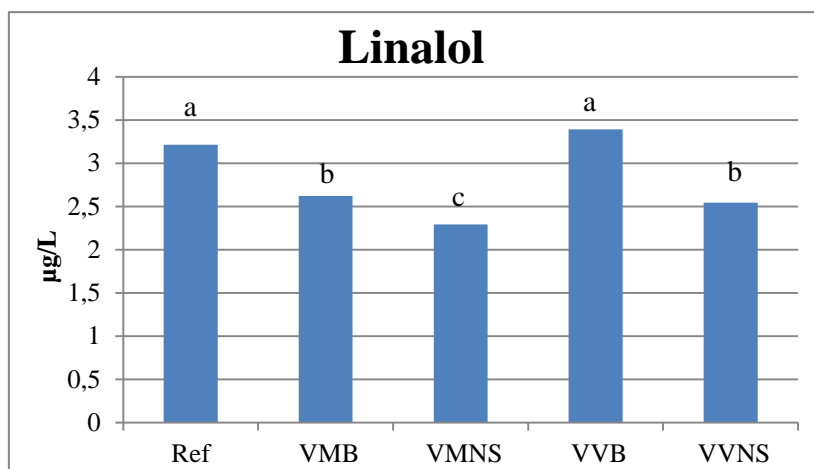
El dihidrocinamato de etilo (figura 20) solo se encuentra en el vino tratado en mosto con ambos compuestos y en el vino tratado tras la fermentación con nanoesponja. Las concentraciones son muy bajas, en torno a 0,20 µg/L.

**Figura 21.** Variación de la concentración de cinamato de etilo en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



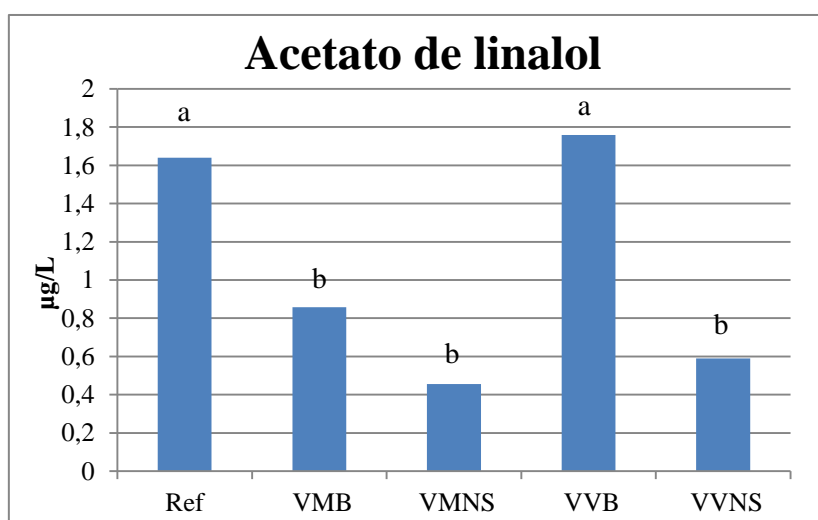
Este compuesto aporta al vino notas florales, lo que es positivo para el mismo. En la figura 21, se puede ver que el vino tratado tras la fermentación con bentonita es el que tiene mayor concentración de cinamato de etilo, junto con la referencia, seguido del vino tratado con nanoesponja también tras la fermentación. Por otro lado, los vinos tratados en mosto, presentan concentraciones bastante inferiores, alrededor de 0,15 µg/L. Por lo que sería beneficioso, desde el punto de vista de este compuesto, tratar el vino tras la fermentación.

**Figura 22.** Variación de la concentración de linalool en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



El linalool (figura 22), se presenta en mayor concentración en el vino tratado en vino con bentonita y en el control. El vino tratado en el mosto con nanoesponja es el que tiene las concentraciones más bajas. Sin embargo, los valores no son muy dispares al tratar de una forma u otra y están por debajo de los umbrales de olor. El linalool interesa que esté en el vino, ya que aporta aromas florales y cítricos.

**Figura 23.** Variación de la concentración de acetato de linalol en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.

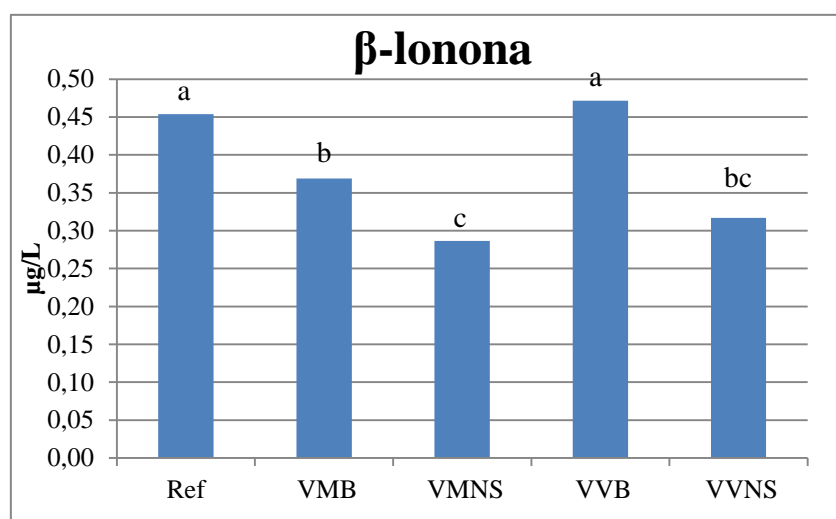


En la figura 23 se observa que el vino tratado tras la fermentación y con bentonita es el que mayor concentración de acetato de linalol posee (1,76  $\mu\text{g/L}$ ) seguido de la referencia. El resto, presenta valores bastante inferiores a este, siendo el menor en el vino tratado en mosto con nanoesponja (0,46  $\mu\text{g/L}$ ). Al igual que el linalol, este terpeno interesa que esté presente en el vino porque aporta aromas positivos al mismo.

En estos resultados se observa que las mayores concentraciones de los terpenos significativos (linalol y acetato de linalol) fueron más altas en el control y en las muestras tratadas al final de la fermentación con bentonita y la menor concentración fue en las muestras tratadas durante la fermentación, y en concreto, con nanoesponja.

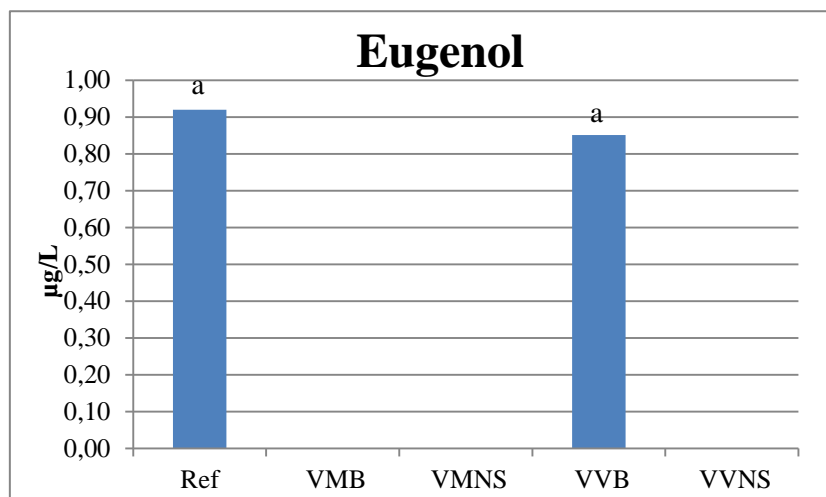
El efecto de la bentonita sobre los terpenos y en particular, sobre el linalol ya se ha descrito por *Lira* sobre mostos de Albariño [24] y por *Moio* sobre mostos de Falanghina [26]. En estos estudios también se dan concentraciones inferiores de terpenos en los vinos tratados durante la fermentación con bentonita.

**Figura 24.** Variación de la concentración de  $\beta$ -lonona en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



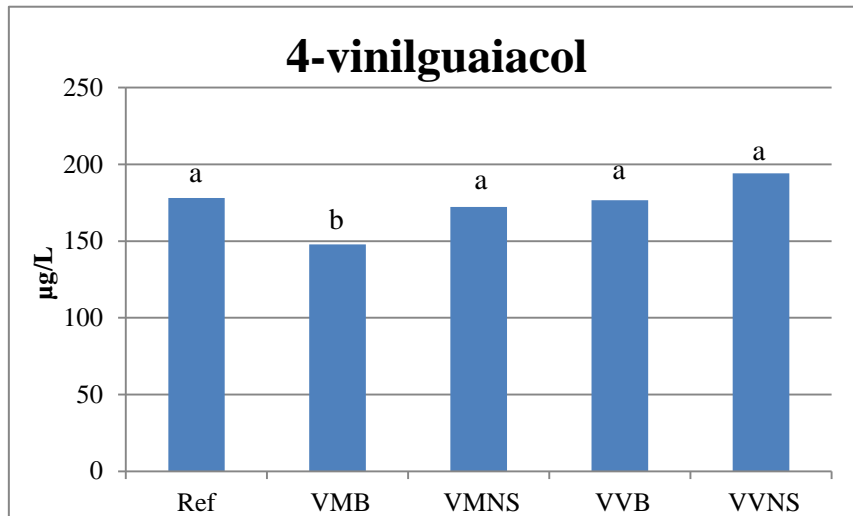
En la figura 24 se presentan las concentraciones de  $\beta$ -ionona en los vinos tratados. Este compuesto está en mayor concentración en el vino tratado en vino con bentonita y en la referencia. El vino tratado en mosto con nanoesponja es el que presenta las concentraciones más bajas de  $\beta$ -ionona.

**Figura 25.** Variación de la concentración de eugenol en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



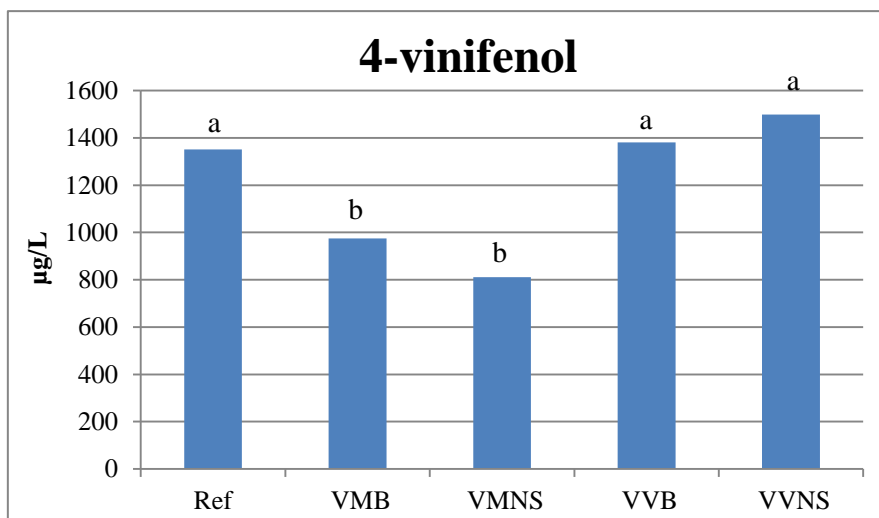
El eugenol (figura 25) solo se encuentra en el vino tratado con bentonita tras la fermentación y en la referencia, en valores bajos alrededor de 0,90 µg/L. Este compuesto es muy interesante en el vino ya que aporta aromas a clavo y notas picantes. Con las concentraciones tan bajas que se presentan del mismo, no llega al umbral de olor.

**Figura 26.** Variación de la concentración de 4-vinilguaiacol en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



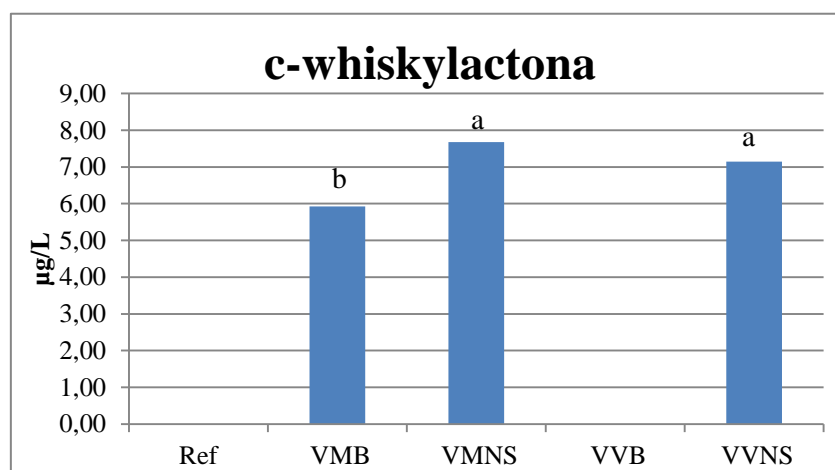
En la figura 26 se muestran las concentraciones obtenidas de 4-vinilguaiacol tras los tratamientos. Las concentraciones son similares en todos los vinos excepto en el vino tratado en mosto con bentonita que es significativamente inferior (148 µg/L). Este compuesto se encuentra en mayor concentración en el vino tratado en vino con nanoesponja (194 µg/L). De esta manera, utilizando nanoesponja en vino se podrían desarrollar más aromas que si se trata con bentonita. El 4-vinilguaiacol da aromas a curry y a clavo, superando los umbrales de olor en este caso.

**Figura 27.** Variación de la concentración de 4-vinilfenol en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



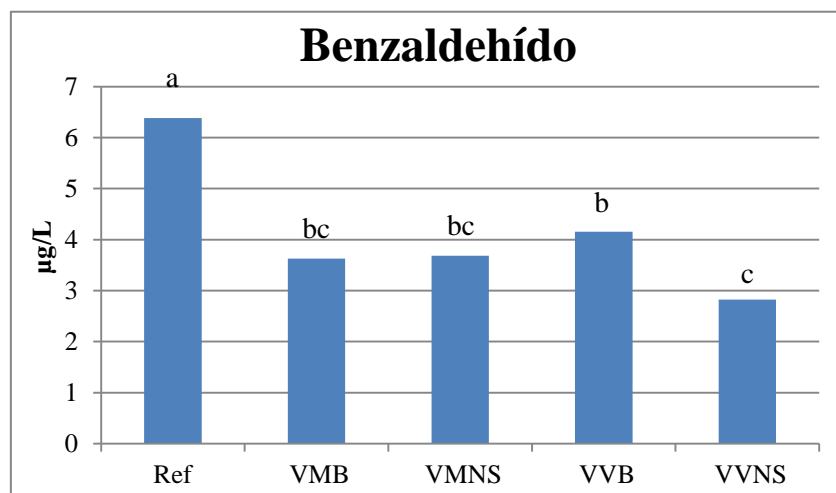
Respecto al 4-vinifenol (figura 27), se observa que los vinos tratados en el mosto tienen concentraciones inferiores a los vinos tratados en vino. La concentración más elevada se encuentra en el vino tratado en el vino con nanoesponja. Todas las concentraciones están muy por encima del umbral de olor, lo que es positivo, puesto que este compuesto da notas a vainilla y a ciprés, que interesan en el vino. Como consecuencia de esto, se podrían utilizar nanoesponjas en vino, ya que favorecería el mantenimiento de este tipo de aromas.

**Figura 28.** Variación de la concentración de c-whiskylactona en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



En la figura 28 se presentan las concentraciones de c-whiskylactonas en los vinos. Las concentraciones mayores de este compuesto se encuentran en los vinos tratados con nanoesponja, tanto en vino como en mosto. En el vino tratado en mosto con bentonita la concentración es inferior, y en el resto es nula. Este compuesto produce aromas a coco, lo que resulta positivo para los vinos. Aunque las concentraciones sean inferiores a los umbrales de olor.

**Figura 29.** Variación de la concentración de benzaldehído en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



Respecto al benzaldehído (figura 29), el vino tratado en el vino con nanoesponja es el que tiene menor concentración de este compuesto. La concentración más elevada con diferencia se encuentra en la referencia. Aunque unas concentraciones son más elevadas que otras, todas se mantienen por debajo del umbral de olor por lo que es positivo, ya que este compuesto da notas de amargor (almendras amargas), que no interesan en el vino. Si el benzaldehído se encontrara en valores muy elevados podría deberse a *Botrytis Cinerea*. Los resultados obtenidos son interesantes, puesto que utilizando nanoesponja en vino, se podría reducir notablemente la concentración de benzaldehído.

#### **4.7. Mercaptanos polifuncionales**

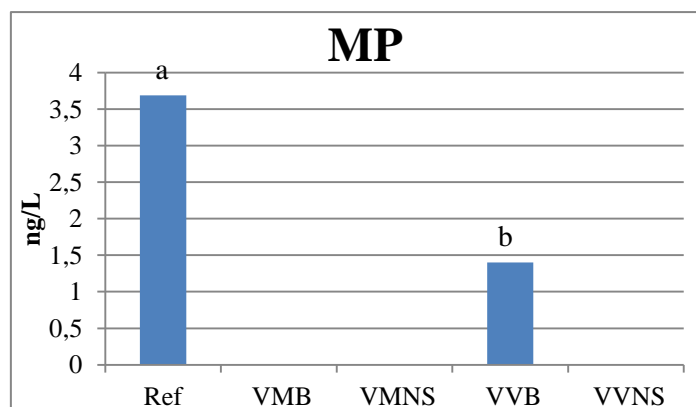
Los mercaptanos polifuncionales son moléculas que poseen en su estructura al menos un grupo -SH (tiol). En el vino se encuentran principalmente la 4-mercapto-4-metil-2-pentanona (4MMP) con aroma a boj, el 3-mercapto-hexanol (3MH) que aporta notas aromáticas de pomelos, cítricos y frutas exóticas, y derivado de este el acetato de 3-mercaptohexilo (3MHA) el cual evoca a frutas tropicales. Interesa que se mantengan en el vino ya que son notas características de esta variedad y muy apreciados por los consumidores.

También se encuentran en el vino otros tioles que ejercen una gran influencia en el aroma, como son el bencilmercaptano (BM), que aporta notas características a pelo quemado, el furfuriltiol (FFT), que tiene un característico aroma a café tostado, y el metilfuranol (MF) con notas descritas como frito y barbacoa.



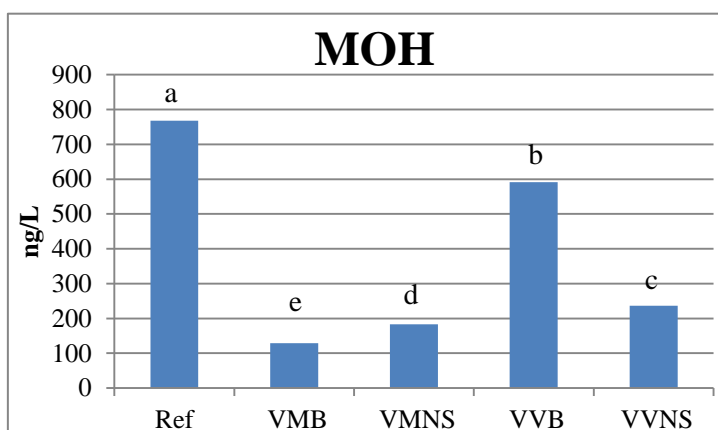
En la tabla 5 del anexo, se puede observar que las concentraciones umbral de estos compuestos son muy bajas (figura 30). Pequeñas concentraciones de los mismos modifican el aroma.

**Figura 30.** Variación de la concentración de 4-mercapto-4-metil-2-pentanona en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



Pese a ser uno de los tioles principales (figura 30) que se encuentran en el vino, en este caso solo se localiza en el vino tratado en vino con bentonita y en la referencia. En ambos casos supera los umbrales de olor, dando notas a boj, siendo una característica positiva para el aroma del vino.

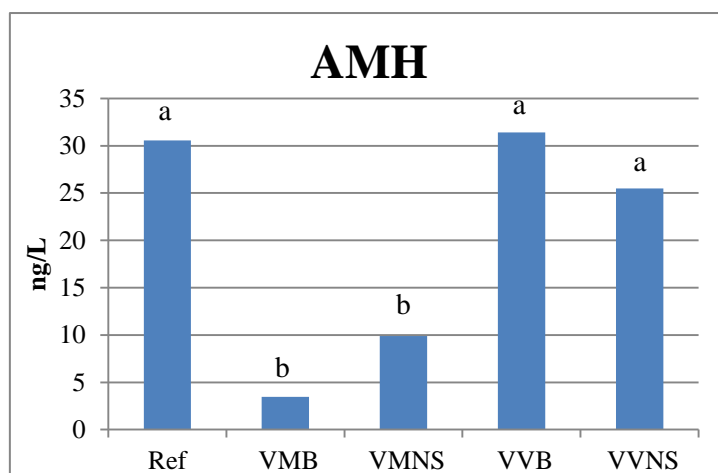
**Figura 31.** Variación de la concentración de 3-mercapto-hexanol en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



Este compuesto (figura 31) se encuentra en concentraciones muy variables en los diferentes vinos tratados. Las concentraciones son superiores en los vinos tratados en vino que en los tratados en mosto, siendo la concentración superior en el vino tratado en

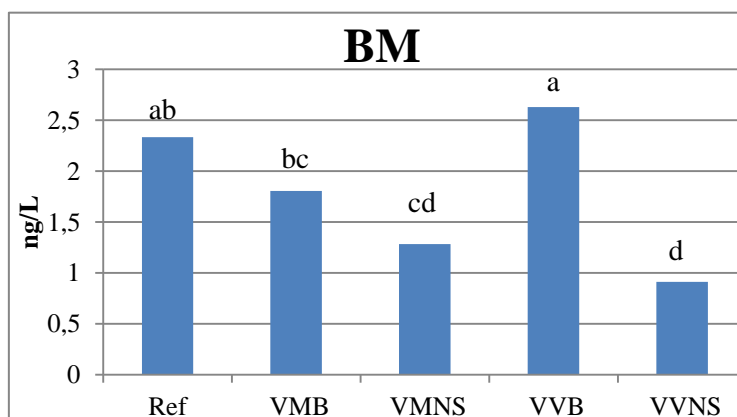
vino con bentonita y la inferior en el vino tratado en mosto con bentonita. Da aromas a frutas exóticas, pomelo y cítricos y los umbrales de olor los supera notablemente (las concentraciones son elevadas respecto al resto de tioles) siendo muy satisfactorio para el aroma del vino.

**Figura 32.** Variación de la concentración de acetato de 3-mercaptohexilo en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



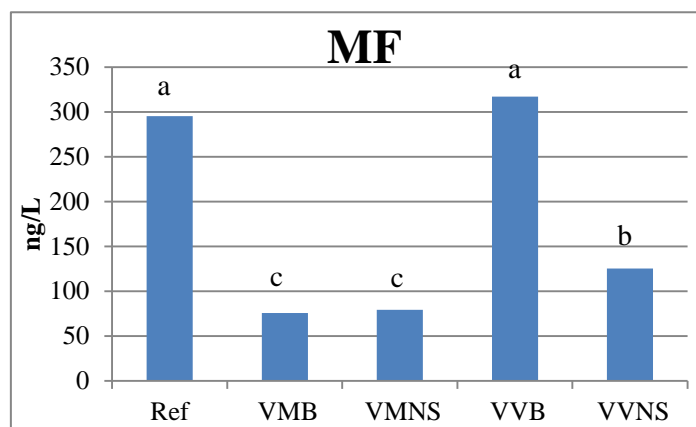
El acetato de 3-mercaptohexilo (figura 32) se encuentra en mayor concentración, con diferencia en los vinos que han sido tratados en vino. Esto es muy interesante ya que utilizando bentonita o nanoesponja en vino se pueden potenciar los aromas a frutas tropicales que desprende este compuesto. Además los umbrales de olor los supera considerablemente, excepto en el vino tratado en mosto con bentonita.

**Figura 33.** Variación de la concentración de bencilmercaptano en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



Respecto al bencilmercaptano (figura 33) la concentración superior se da en el vino tratado en vino con bentonita y la concentración inferior en el vino tratado en vino con nanoesponja. En todos los casos se supera el umbral de olor, siendo el resultado más interesante la concentración de vino tratado en vino con nanoesponja. Este compuesto da aromas a pelo quemado y a madera tostada por lo que no interesa que esté en el vino en concentraciones muy elevadas.

**Figura 34.** Variación de la concentración de 2-metilfurantiol en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja antes y después de la fermentación alcohólica.



Se observa (figura 34) que el vino tratado en el mosto contiene bajas concentraciones de metilfurantol, a diferencia del vino tratado en el vino, que posee concentraciones mayores, sobretudo en el vino tratado con bentonita. También supera notablemente los umbrales de olor, dando aromas a frito y a barbacoa.

En definitiva, en el vino control y en los vinos tratados con bentonita y nanoesponja después de la fermentación se superan la concentración umbral de estos compuestos, sin embargo, en los vinos tratados en mosto, las concentraciones disminuyen significativamente respecto al control.

Según *Laura (2010)* [23] se produce una disminución de las concentraciones de los mercaptanos polifuncionales en los vinos que han sido tratados con bentonita durante la fermentación y están por debajo del nivel umbral, pero aun así, todos estos compuestos, incluso a bajas concentraciones, juegan un papel destacado en el aroma del vino, contribuyendo a aromas afrutados, frescor, verde.

#### **4.8. Análisis sensorial**

Los vinos con los diferentes tratamientos fueron analizados sensorialmente por el panel de cata del grupo LAAE para evaluar si existían diferencias organolépticas entre los vinos obtenidos a partir de los distintos tratamientos estudiados. Se prepararon tests triangulares y se les pidió a los catadores que dijeran cuál de las copas era diferente tanto a nivel olfativo como en boca. El análisis estadístico de los resultados entre las combinaciones de vinos realizadas (para  $p < 0,05$ ) se muestra en la siguiente tabla.

Como puede observarse en la tabla 6 del anexo, en el primer test en el que se compararon los dos tratamientos, en mosto o en vino tanto a nivel olfativo como en boca, los catadores no apreciaron diferencias significativas. Por lo que, no hay variación a nivel sensorial entre adicionar bentonita o nanoesponja al mosto y tampoco si se adicionan al vino. Sin embargo, si se comparan los vinos obtenidos de los tratamientos en mosto y en vino con el mismo aditivo (a nivel olfativo), se encontraron diferencias significativas para las nanoesponjas.

Por último si se comparan los aditivos frente al control vemos que en los mostos tratados con nanoesponjas frente al control también se encuentran diferencias significativas. La adición de bentonita antes o después de la fermentación no produce variación a nivel sensorial, pero sí existen diferencias sensoriales en la adición de nanoesponjas antes o después de la fermentación.

Por tanto, a nivel aromático, es mejor el uso de bentonita, ya sea en mosto o en vino, puesto que no se aprecian diferencias significativas tratando durante o después de la fermentación.

En otros estudios realizados [24] con bentonita, los catadores tenían preferencia por los vinos tratados a mitad y al final de la fermentación, tanto a nivel olfativo como en boca.

#### **5. CONCLUSIONES**

Tratar el vino con bentonita después de la fermentación alcohólica es más eficaz, puesto que se necesitan dosis menores. Sin embargo, en las nanoesponjas es al revés, ya que en vino hacen falta dosis mayores para conseguir vinos estables proteicamente. Los análisis clásicos realizados, pese a presentar diferencias significativas en varios parámetros, no son importantes a nivel enológico.

En cuanto a la inestabilidad tartárica, ninguno de los tratamientos consigue eliminarla, pero el vino tratado con nanoesponja después de la fermentación presenta una diferencia cercana a 0,10 g/L, siendo estable a valores inferiores a este. Con lo cual, se podría utilizar nanoesponja en vino para estabilizar el vino respecto al tartárico.

Con respecto a los aromas mayoritarios, es mejor tratar los vinos durante la fermentación alcohólica ya que estos aromas se encuentran en concentraciones más bajas. En los aromas trazas, es preferible tratar el vino con bentonita y después de la fermentación ya que se encuentran estos aromas en concentraciones superiores, lo que es favorable ya que aportan notas positivas. Excepto en el caso de los fenoles (4-vinilguaiacol y 4-vinilfenol) que sería preferible tratar los vinos tras la fermentación pero con nanoesponja, siendo muy positivo desde el punto de vista organoléptico. Por otra parte, utilizando nanoesponjas en vino, se podría reducir la concentración de benzaldehído, que da amargor. Por último, en los tioles, es interesante tratar los vinos tras la fermentación con bentonita, se registran mayores concentraciones de 3-mercaptohexanol y 3-mercaptohexilo. En cuanto al bencilmercaptano, tratando el vino con nanoesponja después de fermentar, se consiguió eliminar la mayor concentración del mismo, que nos da aromas a pelo quemado.

En definitiva, a nivel aromático los vinos tratados con bentonita al final de la fermentación alcohólica son menos afectados que los tratados durante la fermentación, sobre todo en los mercaptanos polifuncionales, siendo estos muy importantes en los vinos de Sauvignon Blanc.

## **6. APORTACIONES EN MATERIA DE APRENDIZAJE**

1. Conocimiento de bases de datos relacionadas con la tecnología de los alimentos así como realizar búsquedas de artículos científicos y saber seleccionar y sintetizar la información más relevante de revisiones bibliográficas.
2. Capacidad para auto gestionar el tiempo de trabajo puesto que en mi caso, al participar en el programa Americampus, he tenido que compaginar este proyecto, con otras asignaturas, exámenes, trabajos, clases,... realizadas en el país de destino.
3. Mejora en la redacción y estructura de informes científicos. He aprendido la importancia de una buena estructura.

4. Mejorar en el trabajo en un laboratorio ya que, el trabajar de manera individual, me ha ayudado a trabajar con mayor seguridad.
5. Aprendizaje en cuanto al vocabulario técnico relacionado con la ciencia del vino.
6. Aprender a utilizar programas para citar referencias bibliográficas.

## **7. EVALUACIÓN DE LA ASIGNATURA Y SUGERENCIAS DE MEJORA**

Desde mi punto de vista, esta asignatura está bien planteada y es muy importante para la formación de los alumnos, ya que aprendes a ser más independiente a la hora de hacer t de escribir un trabajo de estas características.

Además, me parece muy positivo que la elección de los temas de trabajo sea voluntaria, además de que hay mucha variedad de temas a elegir, de diferentes áreas.

Sin embargo, como sugerencia de mejora, propongo un aumento de los ECTS de esta asignatura, ya que hay que invertir bastantes horas de trabajo que no se corresponden con los créditos actuales (6 ECTS).

## **8. BIBLIOGRAFÍA**

1. Panreac. *Metodos analiticos en alimentaria. Productos derivados de la uva y similares*.1987: Montplet & Esteban
2. Peynaud, E. and A.G. Salgueiro, *Enología práctica: conocimiento y elaboración del vino*1996: Mundi-Prensa.
3. Rankine, B., *Manual práctico de enología*. 1999: Acribia.
4. Alcaide, JM., *La Fraccion nitrogenada del vino. Péptidos bioactivos*. Madrid,2007.
5. Vanrell, G., Canals, R., Canals, JM., Zamora, F., *Influencia de la clarificación sobre la fracción proteica del vino blanco; Efecto preventivo sobre la quiebra proteica y consecuencias organolépticas*. Unidad de Enología del Centro de Referencia en Tecnología de Alimentos de la Generalidad de Cataluña (CeRTA).
6. Flanzy, C., *Enología: fundamentos científicos y tecnológicos*2003: AMV Ediciones.
7. Ribéreau-Gayon, P., *Tratado de enología*2003: Hemisferio Sur.
8. Benavent, J.L.A. and M.I.Á. Cano, *Tecnología enológica*2003: Síntesis Editorial.
9. Ribéreau-Gayon, J., *Tratado de enología: ciencias y técnicas del vino. Vinificación, transformación del vino*1992: Hemisferio Sur.
10. Garibay, M.G., R.Q. Ramírez, and A.L.M. Canales, *Biotechnología alimentaria*1993: Limusa.
11. Úbeda, R.M., *Teoría de la clarificación de mostos y vinos y sus aplicaciones prácticas*2000: Mundi Prensa.
12. Galiotti, H., *Clarificación*. Facultad de Ciencias Agrarias. Dep. de Ciencias Enológicas y Agroalimentarias.

13. Ribéreau-Gayon, J., *Tratado de enología: ciencias y técnicas del vino. Clarificación y estabilización, materiales e instalaciones*1993: Hemisferio Sur.
14. Ribeiro, T., et al., *Influence of the structural features of commercial mannoproteins in white wine protein stabilization and chemical and sensory properties*. Food Chem, 2014. 159: p. 47-54.
15. Sauvage, F.-X., et al., *Proteins in white wines: Thermo-sensitivity and differential adsorption by bentonite*. Food Chemistry, 2010. 118(1): p. 26-34.
16. Bilensoy, Erem., *Cyclodextrins in Pharmaceuticals cosmetics and biomedicine Current and Future Industrial Applications*. Wiley 2011.
17. Botelho, G., *Effect of cyclodextrines on off-odours removal of red wine\_an innovative approach*. Ciência Téc. Vitiv. 26 (2) 63-68. 2011
18. Sarmento, M.R., *Influence of intrinsic factors on conventional wine protein stability tests*. Food Control 11 (2000) 423-432.
19. Química, P., *Productos derivados de la uva y similares: métodos oficiales de análisis*1992: Panreac.
20. Cenzano, J.M. and A.M. Vicente, *Análisis de vinos, mostos y alcoholes*2003: Ediciones Mundi-Prensa.
21. Ortega, C., *Fast analysis of important wine volatile compounds development and validation of a new method based on gas chromatographic-flame ionisation detection analysis of dichloromethane microextracts*. Journal of Chromatography A, 923 (2001) 205–214
22. López, R., *Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection*. Journal of Chromatography A, 966 (2002) 167–177
23. Mateo-Vivaracho, L., et al., *Analysis, occurrence, and potential sensory significance of five polyfunctional mercaptans in white wines*. J Agric Food Chem, 2010. 58(18): p. 10184-94.
24. Lira, E., et al., *Impact of bentonite additions during vinification on protein stability and volatile compounds of Albarino wines*. J Agric Food Chem, 2015. 63(11): p. 3004-11.
25. Lambri, M., et al., *Comparing the impact of bentonite addition for both must clarification and wine fining on the chemical profile of wine from Chambave Muscat grapes*. International Journal of Food Science & Technology, 2012. 47(1): p. 1-12.
26. Moio, L., et al., *Influence of Clarification Treatment on Concentrations of Selected Free Varietal Aroma Compounds and Glycoconjugates in Falanghina (Vitis vinifera L.) Must and Wine* Am. J. Enol. Vitic. 55:1 (2004).

## ANEXO

**Tabla 1:** Valores medios de los análisis clásicos y de la estabilidad tartárica (conductividad).

	Ref	VMB	VMNS	VVB	VVNS
pH *	3,50 <b>ab</b>	3,48 <b>b</b>	3,45 <b>c</b>	3,52 <b>a</b>	3,45 <b>c</b>
Ac. Total (g/L)	4,99	4,58	5,10	5,18	5,03
K <sup>+</sup> (mg/L)*	402 <b>a</b>	399 <b>c</b>	400 <b>bc</b>	400 <b>b</b>	400 <b>bc</b>
Abs 420 nm *	0,05 <b>b</b>	0,05 <b>bc</b>	0,06 <b>a</b>	0,05 <b>c</b>	0,05 <b>bc</b>
Az.reductores (g/L)	0,15	0,40	0,35	0,20	0,45
Ac. Volátil (g/L)	0,64	0,33	0,33	0,40	0,37
Sulfuroso libre (mg/L)*	36,3 <b>a</b>	32,0 <b>a</b>	17,1 <b>b</b>	29,9 <b>a</b>	32,0 <b>a</b>
Sulfuroso total*(mg/L)	87,5 <b>a</b>	89,6 <b>a</b>	68,3 <b>b</b>	87,5 <b>a</b>	81,1 <b>a</b>
Conductividad	19,5	32,5	11,5	12,0	41,0
Variación de ácido tartárico (g/L) *	1,71 <b>a</b>	1,27 <b>c</b>	1,60 <b>b</b>	1,73 <b>a</b>	0,18 <b>d</b>

Con el símbolo (\*) se muestran los compuestos con diferencias significativas ( $p < 0,05$ )  
Las letras a,b,c,d significan diferencias significativas entre las diferentes muestras

**Tabla 2:** Concentraciones medias de los ácidos orgánicos (g/L)

ÁCIDOS ORGÁNICOS (g/L)	Ref	VMB	VMNS	VVB	VVNS
Tartárico	2,95	2,85	3,14	2,90	2,90
Málico	1,69	1,56	1,55	1,61	1,62
Láctico	0,40	0,42	0,47	0,28	0,32
Acético	0,35	0,28	0,42	0,25	0,37
Cítrico	0,46	0,39	0,43	0,42	0,53
Succínico	0,26	0,28	0,29	0,23	0,26



**Tabla 3:** Concentraciones medias de los aromas mayoritarios (mg/L)

<b>MAYORITARIOS (mg/L)</b>	<b>Ref</b>	<b>VMB</b>	<b>VMNS</b>	<b>VVB</b>	<b>VVNS</b>
<b>Esteres</b>					
Acetato de Etilo	61,9	53,9	58,5	55,7	60,6
Butirato etilo	0,58	0,57	0,66	0,50	0,61
Acetato isoamilo	3,29	3,60	3,93	3,11	3,32
Hexanoato etilo	0,45	0,54	0,50	0,55	0,51
Acetato hexilo	0,30	0,33	0,33	0,30	0,30
Lactato etilo	1,03	1,02	0,95	1,00	0,98
Octanoato etilo	0,38	0,49	0,42	0,53	0,46
<b>Alcoholes superiores</b>					
Isobutanol *	29,4 <b>bc</b>	31,5 <b>ab</b>	32,7 <b>a</b>	28,4 <b>c</b>	29,6 <b>bc</b>
1-Butanol *	0,77 <b>a</b>	0,66 <b>b</b>	0,68 <b>b</b>	0,77 <b>a</b>	0,80 <b>a</b>
Alcohol isoamílico	168	184	185	175	164
1-Hexanol	1,99	2,02	1,99	2,02	2,02
c-3-Hexenol	0,11	0,11	0,10	0,11	0,11
Metionol *	0,63 <b>a</b>	0,67 <b>a</b>	0,63 <b>a</b>	0,65 <b>a</b>	0,57 <b>b</b>
Alcohol bencílico	0,18	0,17	0,17	0,22	0,19
β-Feniletanol	14,5	15,4	15,7	16,0	14,6
<b>Ácidos</b>					
Ácido acético *	299 <b>ab</b>	240 <b>c</b>	258 <b>bc</b>	290 <b>ab</b>	309 <b>a</b>
Ácido isobutírico	0,58	0,49	0,54	0,51	0,52
Ácido butírico	1,42	1,47	1,51	1,29	1,30
Ácido isovaleriánico	0,65	0,72	0,74	0,63	0,68
Ácido hexanoico	4,62	4,11	4,11	4,93	4,67
Ácido octanoico *	7,89 <b>a</b>	5,86 <b>b</b>	5,70 <b>b</b>	7,84 <b>a</b>	7,97 <b>a</b>
Ácido decanoico	0,52	0,49	0,37	0,71	0,57
<b>Varios</b>					
Acetoina *	0 <b>b</b>	1,21 <b>a</b>	1,30 <b>a</b>	0 <b>b</b>	0 <b>b</b>
γ-Butirolactona	1,24	1,15	1,16	1,26	1,25

**Tabla 4:** Resultados obtenidos de los aromas traza (µg/L)

<b>TRAZAS (µg/L)</b>	<b>Ref</b>	<b>VMB</b>	<b>VMNS</b>	<b>VVB</b>	<b>VVNS</b>
<b>Esteres</b>					
Acetato isobutilo	53,5	59,0	56,9	62,3	58,9
2-Metilbutirato de etilo	0,69	0,92	0,84	1,00	0,79
Isovalerato de etilo	6,58	5,74	7,10	6,25	7,35
Acetato butilo *	14,2 <b>bc</b>	12,6 <b>c</b>	12,6 <b>c</b>	17,1 <b>a</b>	15,7 <b>ab</b>
Acetato feniletilo	228	222	222	230	228
Dihidrocinamato de etilo *	0 <b>b</b>	0,21 <b>a</b>	0,18 <b>a</b>	0 <b>b</b>	0,19 <b>a</b>
Cinamato de etilo *	0,35 <b>a</b>	0,15 <b>c</b>	0,13 <b>c</b>	0,36 <b>a</b>	0,25 <b>b</b>
<b>Terpenos</b>					
Linalool *	3,21 <b>a</b>	2,62 <b>b</b>	2,29 <b>c</b>	3,39 <b>a</b>	2,54 <b>b</b>
Acetato de linalol *	1,64 <b>a</b>	0,86 <b>b</b>	0,46 <b>b</b>	1,76 <b>a</b>	0,59 <b>b</b>
α-Terpineol	0,87	0,91	0,97	0,79	0,86
β-Citronelol	6,72	5,87	5,85	6,40	5,92
<b>Norisoprenoides</b>					
β-Damascenona	3,55	3,66	3,85	2,95	3,04
β-Ionona *	0,45 <b>a</b>	0,37 <b>b</b>	0,29 <b>c</b>	0,47 <b>a</b>	0,32 <b>bc</b>
<b>Fenoles volátiles</b>					
Guaiacol	9,98	11,4	7,85	6,13	11,1
o-Cresol	0,55	0,45	0,52	0,54	0,46
Eugenol *	0,92 <b>a</b>	0 <b>b</b>	0 <b>b</b>	0,85 <b>a</b>	0 <b>b</b>
4-Etilfenol	0,15	0,21	0,23	0,15	0,18
4-Vinilguaiacol *	178 <b>a</b>	148 <b>b</b>	172 <b>a</b>	177 <b>a</b>	194 <b>a</b>
2,6-Dimetoxifenol	17,3	15,5	10,33	8,64	19,1
4-Vinilfenol *	1351 <b>a</b>	975 <b>b</b>	811 <b>b</b>	1381 <b>a</b>	1499 <b>a</b>
4-Alil-2,6-dimetoxifenol	0,82	0,71	0,72	0,63	0,76
<b>Lactonas</b>					
c-Whiskylactona *	0 <b>c</b>	5,92 <b>b</b>	7,67 <b>a</b>	0 <b>c</b>	7,14 <b>a</b>
γ-Nonalactona	8,85	8,67	8,59	8,84	8,36
γ-Decalactona	1,19	1,78	1,96	1,32	1,51
<b>Vainillas</b>					
Vanillina	3,87	5,14	4,70	3,46	5,35
Vanillato de metilo	12,0	11,6	12,0	12,1	12,4
Vanillato de etilo	5,84	4,04	4,01	4,93	4,81
Acetovanillona	20,5	20,6	20,6	21,1	21,6
<b>Benzaldehido *</b>	6,39 <b>a</b>	3,63 <b>bc</b>	3,68 <b>bc</b>	4,16 <b>b</b>	2,82 <b>c</b>

**Tabla 5:** Resultados obtenidos de los mercaptanos

<b>TIOLES MERCAPTANOS POLIFUNCIONALES (ng/L)</b>	<b>Ref</b>	<b>VMB</b>	<b>VMNS</b>	<b>VVB</b>	<b>VVNS</b>
MP *	3,69 <b>a</b>	0 <b>b</b>	0,00 <b>b</b>	1,40 <b>b</b>	0,00 <b>b</b>
MOH *	768 <b>a</b>	129 <b>e</b>	183 <b>d</b>	591 <b>b</b>	236 <b>c</b>
AMH *	30,5 <b>a</b>	3,46 <b>b</b>	9,88 <b>b</b>	31,4 <b>a</b>	25,5 <b>a</b>
BM *	2,33 <b>ab</b>	1,81 <b>bc</b>	1,28 <b>cd</b>	2,63 <b>a</b>	0,91 <b>d</b>
MF *	295 <b>a</b>	75,7 <b>c</b>	79,3 <b>c</b>	317 <b>a</b>	125 <b>b</b>

**Tabla 6:** Concentraciones umbral de mercaptanos polifuncionales

<b>COMPUESTOS</b>	<b>UMBRAL DE OLOR</b>
4-mercapto-4-metil-2-pentanona (MP)	0,8
3-mercapto-hexanol (MOH)	60
Acetato de 3-mercaptohexilo (AMH)	4
Bencilmercaptano (BM)	0,3
2-metilfurantol (MF)	4

**Tabla 7:** Test triangulares realizados a lo largo del proyecto.

<b>Nº Catadores</b>	<b>Nivel</b>	<b>Combinaciones</b>	<b>Aciertos</b>	<b>Diferencias significativas (p&lt;0,05)</b>
10	Olfativo y en boca	1. Mosto B vs Mosto NS	5	No
		2. Vino B vs Vino NS	4	No
10	Olfativo	1. Vino NS vs Mosto NS	8	Sí
		2. Vino B vs Mosto B	6	No
		3. Control vs Mosto B	4	No
		4. Control vs Mosto NS	7	Sí

(\*) B = Bentonita, NS = nanoesponja

**Tabla 8:** Resultados obtenidos del estudio, mostrando las concentraciones más altas (azul) y más bajas (rojo) de los diferentes compuestos que mostraron diferencias significativas.

			Ref.	VMB	VMNS	VVB	VVNS
<b>pH</b>							
<b>K+</b>							
<b>Abs 420 nm</b>							
<b>Sulfuroso Libre y Total</b>							
<b>Ac.Tartárico</b>							
<b>Mayoritarios</b>	<b>Alcoholes</b>	Isobutanol					
		1-butanol					
		Metionol					
	<b>Ácidos</b>	Acético y octanoico					
	<b>Varios</b>	Acetoina					
<b>Trazas</b>	<b>Esteres</b>	Acetato butilo					
		Dihid. etilo					
		Cinam. etilo					
	<b>Terpenos</b>	Linalol					
		Acet. linalol					
	<b>Norisopr</b>	B-Ionona					
	<b>Fenoles volátiles</b>	Eugenol					
		4-vinilg					
		4-vinilfe					
	<b>Lactonas</b>	wiskyl					
	<b>Benzaldehído</b>						
<b>Tioles</b>	<b>MP</b>						
	<b>MOH</b>						
	<b>AMH</b>						
	<b>BM</b>						
	<b>MF</b>						

